

Safety of Cevac[®] Transmune from three different perspectives

Marcelo Paniago¹ Christophe Cazaban¹ Fernando Lozano¹ Branko Alva², Yannick Gardin³

¹Poultry veterinary service / ²poultry corporate marketing/ ³scientific direction

بی‌خطری واکسن ترانسمیون از سه دیدگاه مختلف

مقدمه:

تضعیف ایمنی در بدن را می‌توان اختلال در پاسخ ایمنی موقتی یا دائمی تعریف نمود که نتیجه آسیب به سیستم ایمنی بوده که نهایتاً سبب افزایش حساسیت به بیماری‌های مختلف می‌گردد (Yegani and Bntcher, 2005). این تضعیف ایمنی در بدن می‌تواند به عللی همچون بیماری‌های عفونی، مایکوتوکسین‌ها، کمبودهای تغذیه‌ای، ضعف‌های مدیریتی ایجاد کننده استرس و سایر عوامل رخ دهد. در شرایط فارمی اغلب این عوامل به صورت ترکیبی سبب تضعیف ایمنی می‌گردد.

علی‌رغم چند عاملی بودن تضعیف سیستم ایمنی و نیز محدودیت تشخیص صحیح در شرایط فارمی، بیماری بورس عفونی (گامبورو) به عنوان مضمون اصلی در تضعیف سیستم ایمنی محسوب می‌گردد. در شرایط فارمی زمانی که آتروفی بورس مشاهده می‌گردد، شک به این بیماری برانگیخته می‌شود. با این وجود شرایط آنگونه که به نظر می‌رسد سهل نمی‌باشد.

در واقع سطح تضعیف ایمنی بیشتر به سن ابتلا به ویروس گامبورو و میزان تخلیه لمفوسیتی بستگی دارد. شرایط وقتی پیچیده‌تر می‌شود که واکسن‌های زنده بیماری گامبورو برای مقابله با بیماری گامبورو مورد استفاده قرار می‌گیرند و این خود تا حدودی سبب تخریب لمفوسیتی شده و نهایتاً باعث آتروفی بورس می‌گردد. در این موارد سوال اینجاست که سویه‌های واکسینال واکسن‌های زنده تا چه حد در یکپارچگی سیستم ایمنی پرنده تاثیر دارد؟

تضعیف ایمنی را

می‌توان در قالب

اختلال در پاسخ

ایمنی موقتی یا دائمی

تعریف نمود که در

نتیجه آسیب به

سیستم ایمنی بوده و

نهایتاً سبب افزایش

حساسیت به

بیماری‌های مختلف

می‌گردد

این خبرنامه اطلاعاتی را در باب بی‌خطر بودن واکسن ترانسمیون از سه دیدگاه مختلف مورد بررسی قرار داده است، این سه دیدگاه شامل **دیدگاه علمی**، **دیدگاه حاکمیتی** و از **منظر صنعت طیور** می‌باشد.

دیدگاه علمی:

بورس فابریسیوس یک ارگان لمفوئیدی اولیه بوده که فقط در پرنده‌گان یافت می‌شود و عمده نقش آن تنظیم تکامل لمفوسیت‌های B می‌باشد. سیستم تکاملی سلول‌های B، در دو مرحله اساسی زندگی جنینی قابل شناسایی می‌باشند. بین سن جنینی ۸ تا ۱۴ روزگی، بورس فابریسیوس با سلول‌های بنیادی پیش‌بورسی کلونیزه می‌شود. از سن ۱۸ روزگی جنینی به بعد لمفوسیت‌های B کاملاً بالغ توسط بورس فابریسیوس به جریان خون محیطی آزاد شده و به اندام‌های لمفوئیدی ثانویه وارد می‌شوند (طحال، GALT، غده هاردیرین و غیره). در سن ۲ الی ۳ هفتگی، تمامی اندام‌های لمفوئیدی ثانویه به صورت کامل با جمعیت لمفوسیت‌های B بالغ کلونیزه شده و روند تکثیر و مهاجرت لمفوسیت‌های B به پایان می‌رسد. در واقع سلول‌های بنیادی خارج بورسی نیز در این سن وجود دارد.

همان‌طور که قبلاً عنوان شد، واکسن‌های زنده بیماری بورس عفونی برای ایجاد ایمنی بایستی در بورس فابریسیوس تکثیر یابند، با این وجود این تکثیر به معنی سطوحی از تخریب لمفوسیت‌های نابالغ و در نهایت آسیب‌هایی به بورس می‌باشد. نکته بحث برانگیز تاثیر و تکثیر واکسن‌ها در سنین مختلف بر روی بورس فابریسیوس و در نهایت بر یکپارچگی و صلاحیت سیستم ایمنی پرنده می‌باشد. در واقع در سال ۱۹۷۲ فراغر و همکارانش اولین محققانی بودند که بر روی اثرات ایمنوساپرسیو ویروس گامبورو در سنین مختلف مطالعاتی را انجام دادند. نکته جالب اینکه نتایج تحقیقات این دانشمندان حاکی از آن بود که ابتلا به بیماری بورس عفونی در سن یک روزگی سبب بیشترین ساپرس ایمنی در پاسخ آنتی بادی به ویروس بیماری نیوکاسل گردید. در این مطالعه زمانی که پرنده‌گان در سن ۷ روزگی به بیماری گامبورو مبتلا شدند، اثرات تضعیف ایمنی ملایم‌تر بوده و در ابتلا به بیماری گامبورو در سنین ۱۴ و ۲۱ روزگی این تضعیف ایمنی بسیار ناچیز بود. در مطالعات مختلف تکثیر و

واکسن‌های بیماری

گامبورو برای ایجاد

ایمنی نیاز به تکثیر

کامل در بورس

فابریسیوس دارند. با

این وجود، این تکثیر

به معنی تخریب نسبی

لمفوسیت‌های بورس

می‌باشد و متعاقباً

سطحی از آسیب به

بورس وارد می‌گردد

کلونیزه شدن واکسن ترانسمیون در بورس فابریسیوس در سنین بین ۳ الی ۴ هفتگی به وضوح نشان داده شده است. سوال اینجاست که آیا در این سن تکثیر سویه W2512 اثرات منفی بر روی لمفوسیت‌های B خواهد داشت؟ به عبارت دیگر آیا تضعیف سیستم ایمنی در این سن رخ خواهد داد؟ مطالعات زیادی در باب ارزیابی اثرات واکسن ترانسمیون بر روی یکپارچگی سیستم ایمنی پرندگان صورت گرفته است. در این بخش دو مطالعه کاملاً مجزا به صورت خلاصه به نگرش درآمده است.

مطالعه اول:

یک روش انکارناپذیر جهت ارزیابی اهمیت بورس فابریسیوس در یکپارچگی سیستم ایمنی با استفاده از روش جراحی و خارج کردن این اندام لمفاوی اولیه از بدن پرنده می‌باشد. پس از خارج کردن بورس از بدن، می‌توان به طور مثال با واکسیناسیون علیه بیماری نیوکاسل و مقایسه نتایج آن با یک گروه پرنده شاهد (بدون دستکاری بورس) از اهمیت بورس فابریسیوس در ایمنی‌زایی خبردار شد. چنین مطالعه‌ای دقیقاً به همین شکل در آزمایشگاه مرکزی شرکت سوا، SSIU فیلاکسیا مجارستان، انجام گردید.

در این مطالعه بورس فابریسیوس جوجه‌های گوشتی تجاری در سن ۲۱ روزگی (گروه ۱) و یا ۲۸ روزگی (گروه ۲) جراحی و از بدن خارج گردید. واکسیناسیون علیه بیماری نیوکاسل در این گروه‌ها به ترتیب در سن ۲۷ و ۲۹ روزگی با واکسن Hitchner B₁ به روش قطره چشمی انجام شد. گروه‌های کنترل (گروه ۳ و ۴) که بورس فابریسیوس دست‌نخورده داشتند نیز در همین سنین واکسینه شدند (جدول شماره ۱). در نهایت، نمونه‌های سرم در روز واکسیناسیون با واکسن نیوکاسل (روز صفر) و ۱، ۲ و ۳ هفته پس از آن جمع‌آوری گردید. تمامی نمونه‌های سرم در یک روز به روش HI مورد ارزیابی قرار گرفتند.

پروسه جراحی

بورسکتومی (خارج)

کردن بورس فابریسیوس از

بدن در سن ۳ الی ۴

هفتگی (روز ۲۱ یا ۲۸)

تأثیری در پاسخ ایمنی

هومورال نسبت به

واکسیناسیون با

واکسن نیوکاسل ندارد

جدول شماره ۱: واکسیناسیون نیوکاسل

واکسیناسیون نیوکاسل	زمان بورسکتومی	گروه‌ها
روز ۲۷	روز ۲۱	۱
روز ۲۹	روز ۲۸	۲
روز ۲۷	-	۳
روز ۲۹	-	۴

بورسکتومی در سنین ۳

الی ۴ هفتگی هیچ تاثیر

منفی در پاسخ ایمنی

هومورال به

واکسیناسیون علیه

بیماری نیوکاسل، ۱ یا ۶

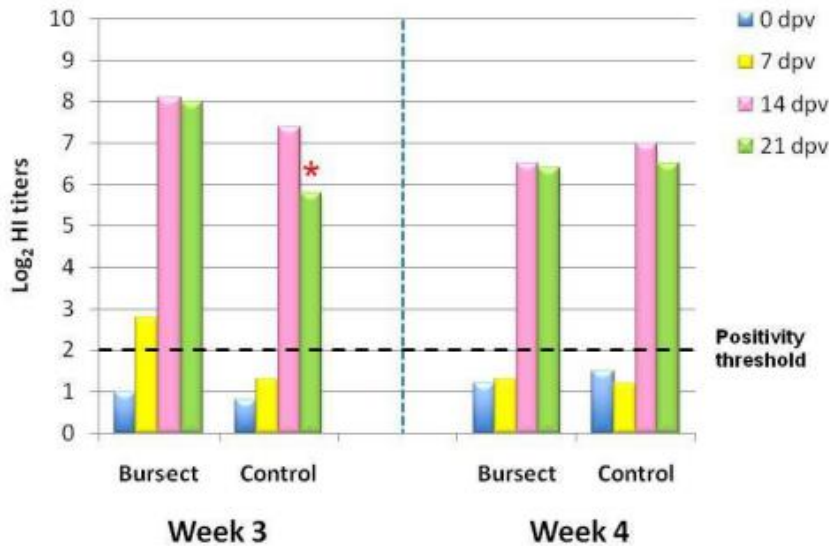
روز پس از بورسکتومی

ندارد

نتایج تست HI در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است. پیک تیتراژ HI در هر گروه دو هفته پس از واکسیناسیون دیده شد. هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های بورسکتومی شده با گروه‌های کنترل وجود نداشت. تنها یک تفاوت معنی‌دار در گروهی دیده شد که در سن ۲۱ روزگی بورسکتومی کرده بود و در مقایسه با گروه بدون بورسکتومی تیتراژ HI بالاتری را نشان داد.

این نتایج نشان داد که بورسکتومی در سنین ۳ الی ۴ هفتگی هیچ تاثیر منفی در پاسخ ایمنی هومورال به واکسیناسیون علیه بیماری نیوکاسل، ۱ یا ۶ روز پس از بورسکتومی ندارد. در انتهای هر مطالعه، پرندگان کالبدگشایی شده و هیچ نشانه‌ای از بقایای بورس فابریسیوس در پرندگان یافت نشد.

نمودار شماره ۱: تاثیر بورسکتومی بر تیتراکسن نیوکاسل به روش HI، به ترتیب صفر (آبی)، ۷ (زرد)، ۱۴ (صورتی) و ۲۱ (سبز) روز پس از واکسیناسیون



*: significantly different antibody level

تصویر شماره ۱: مراحل اصلی خارج کردن بورس فابریسیوس از بدن پرنده



Bird anaesthetized with pentobarbitone



Incision above the cloaca



Bursa of Fabricius



Ligating the BF



Cauterization



Suture of muscles, subcutaneous

تصاویر روبرو نحوه

خارج کردن بورس

فابریسیوس را از بدن

پرنده نشان می‌دهد

که میتواند تایید

کننده فعالیت مناسب

سیستم ایمنی بدن

پرنده پس از خارج

کردن بورس

فابریسیوس می‌باشد

مطالعه شماره ۲:

راه دیگر ارزیابی تاثیرات تکثیر واکسن ترانسمیون بر روی یکپارچگی سیستم ایمنی، انجام آزمون چالش می‌باشد. این آزمایش نیز در آزمایشگاه مرکزی (SSIU) شرکت Ceva در فیلاکسیا مجارستان صورت پذیرفت.

به صورت خلاصه، جوجه‌های گوشتی تجاری هوبارد F15 به سه گروه تقسیم و به صورت زیر واکسینه شدند:

- ۱- واکسن نو ترکیب نیوکاسل (Vectormune ND) به روش زیر جلدی در یک روزگی
- ۲- واکسن نو ترکیب نیوکاسل (Vectormune ND) و واکسن ترانسمیون به روش زیر جلدی در یک روزگی
- ۳- گروه کنترل غیر واکسینه

تمامی گروه‌ها با ویروس ویسروتروپیک ولوژنیک نیوکاسل، جدایه مالزیایی (شماره رفرنس D1524/1/1,2/my/10) ژنوتیپ VII با دوز $5 \log_{10}$ به ازای هر پرنده به روش داخل بینی (۲۰۰ میکرولیتر) چالش داده شدند. چالش‌ها در سنین ۲، ۳، ۴ و ۶ هفتگی بر روی ۱۰ پرنده از هر گروه انجام گرفت. بررسی نتایج این چالش‌ها دو هفته پس از چالش انجام گردید.

افزون بر این، برای شناسایی دریافت واکسن ترانسمیون از سن ۱۴ الی ۳۵ روزگی ۱۰ نمونه بافت بورس و ۱۰ نمونه خون به صورت دو بار در هفته جمع‌آوری گردید. زمانی که بررسی هیستولوژیک تغییرات در بورس را تأیید کردند، آزمون تشخیص مولکولی در دو نمونه متوالی انجام گرفت تا هویت ویروس را شناسایی کند.

نتایج این مطالعات در نمودار زیر خلاصه شده است. محافظت علیه بیماری نیوکاسل در هر دو گروه یکسان بود (گروه دریافت کننده واکسن نو ترکیب نیوکاسل به تنهایی و گروه دریافت کننده همزمان آن با ترانسمیون) که به روشنی نشان می‌دهد واکسن ترانسمیون ایمنی‌زایی حاصل از واکسن نو ترکیب نیوکاسل را مختل نمی‌کند. نکته جالب توجه اینکه دریافت واکسن ترانسمیون توسط گله در ۳ الی ۴ هفتگی نشان داده شد و چالشی که توسط سوپه VVNDV نیوکاسل در این سن صورت گرفت به طور مستقیم بی‌خطر بودن واکسن ترانسمیون را در ایجاد ایمنی‌زایی علیه نیوکاسل نشان داد.

محافظت علیه بیماری

نیوکاسل در هر دو

گروه یکسان بود

(استفاده از واکسن

نیوکاسل به همراه

واکسن ترانسمیون یا

به تنهایی) که به

روشنی نشان می‌دهد

ترانسمیون هیچ‌گونه

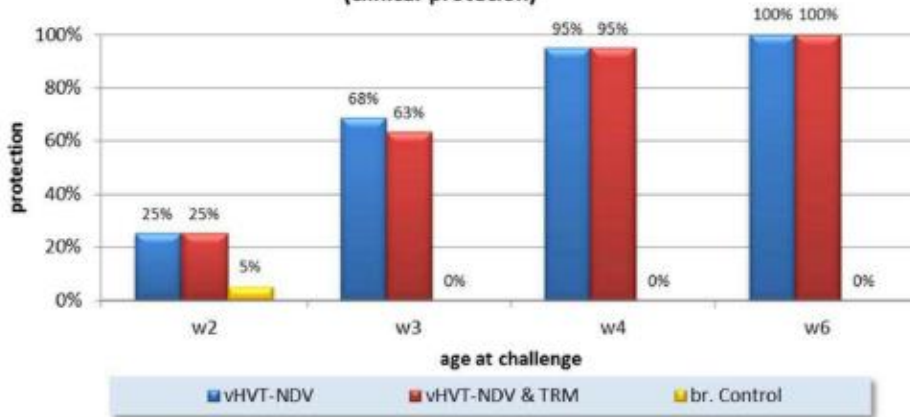
آسیبی به ایمنی

حاصله از واکسن

نو ترکیب نیوکاسل

وارد نمی‌کند

**Protection against vvNDV challenge
(clinical protection)**



روش حاکمیتی:

به منظور نشان دادن بی خطر بودن واکسن، مطالعات آزمایشگاهی فارمی زیاد، طرح‌های فارمی متنوع و ارزیابی‌های خطرات زیست‌محیطی گوناگونی توسط مسئولین زیربط درخواست می‌گردد.

در ارزیابی آزمایشگاهی^۱ بی خطر بودن واکسن بایستی با استفاده از یک دوز واکسن ترانسمیون و نیز ده برابر دوز پیشنهادی، بر روی پرندگان SPF و جوجه‌های گوشتی تجاری صورت گیرد و سپس موارد زیر مورد بررسی قرار می‌گیرند: خلاصه‌ای از بی خطر بودن واکسن بر روی جنین‌های SPF، تاثیر واکسن بر روی سیستم ایمنی (تضعیف ایمنی)، گسترش ویروس واکسن به پرندگان شاهد مرتبط با پرندگان واکسینه، بازگشت سویه واکسینال به حدت اولیه، مشخصات بیولوژیکی سویه واکسن و سایر موارد.

ارزیابی آزمایشگاهی

بی خطر بودن واکسن،

بایستی با استفاده از

یک دوز واکسن

ترانسمیون و نیز ۱۰

برابر دوز پیشنهادی از

واکسن مربوطه، بر

روی پرندگان SPF و

جوجه‌های گوشتی

تجاری صورت گیرد

^۱ ارزیابی‌های آزمایشگاهی بایستی بر روی جوجه SPF صورت گیرد. تمام مطالعات بر روی جوجه‌های گوشتی تجاری اضافه بر این آزمایشات انجام شده‌اند. طرح‌های فارمی نیز در پرندگان گوشتی تجاری صورت گرفته است.

یک مطالعه دیگر جهت بررسی تاثیرات ایمونوساپرسیو واکسن‌های کمپلکس ایمنی بر روی ایمنی‌زایی پرندگان گوشتی واکسینه شده به روش داخل تخم‌مرغ در زیر نشان داده شده است. در این مطالعه جنین‌های جوجه‌های گوشتی نژاد کاب به سه گروه تقسیم شدند:

گروه ۱: ترانسمیون به روش داخل تخم‌مرغ در سن ۱۸ روزگی جنینی و واکسن ویتاپست در یک روزگی به روش قطره چشمی

گروه ۲: واکسن ویتاپست در یک روزگی به روش قطره چشمی

گروه ۳: گروه بدون دریافت هرگونه واکسن

میانگین تیترا HI نیوکاسل گروه در سنین ۱، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸ و ۳۳ روزگی اندازه‌گیری گردید. گروه‌ها با ویروس حاد نیوکاسل 33 Hertz با دوز $6 \log_{10} \text{ELD}_{50}$ در ۲۱ و ۳۳ روزگی به روش داخل عضلانی چالش داده شدند.

نتایج این تحقیق در نمودار زیر نشان داده شده است. میزان تیترا نیوکاسل مادری جوجه‌های یک روزه (حدود ۴.۱۵) تا حدودی پایین بوده و این ایمنی تا ۲۱ روزگی در بدن پرنده کاملا از بین رفته بود. در سن ۲۱ روزگی پاسخ آنتی‌بادی فعال در گروه اول (ترانسمیون + ویتاپست) تیترا HI حدودا ۴.۴۶ بوده و در گروه دوم (ویتاپست به تنهایی) این تیترا ۴.۰۶ بود. در سن ۳۳ روزگی هر دو گروه کاهش در میزان سطح آنتی‌بادی نشان دادند.

ایجاد محافظت

صددردی علیه

ویروس حاد

نیوکاسل، پس از

مصرف واکسن

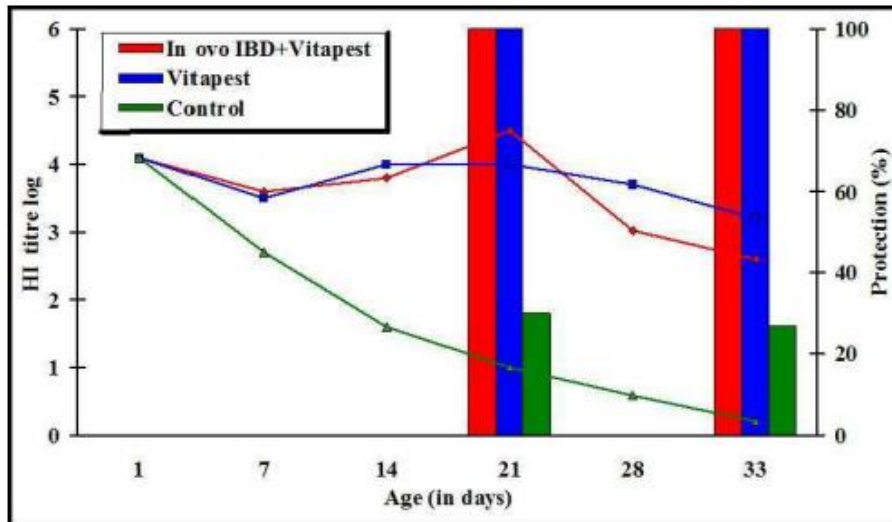
ویتاپست، حاکی از

عدم تاثیر منفی

واکسن ترانسمیون بر

روی سیستم ایمنی

پرنده می‌باشد



تمامی پرندگان ایمن شده علیه نیوکاسل (گروه ۱ و ۲) از چالش صورت گرفته در ۲۱ و ۳۲ روزگی بدون تلفات و علائم بالینی (۱۰۰ درصد محافظت) نجات یافتند. در حالیکه گروه کنترل بدون واکسیناسیون و تنها دارای آنتی بادی‌های مادری، ۷۲ درصد تلفات نشان داد. این نتایج به وضوح نشان می‌دهند که ترانسمیون هیچگونه تاثیر تضعیف و ساپرس ایمنی نداشته و این یافته در پاسخ ایمنی واکسن ویتاپست به وضوح دیده می‌شود.

پس از مطالعات فراوان **پرونده فنی واکسن ترانسمیون^۲** شامل نکات زیر گردید:

"نتایج مطالعات آزمایشگاهی و فارمی ثابت کرده‌اند که واکسن ترانسمیون علیه بیماری گامبورو، حتی در زمان مصرف در پایین‌ترین سن ممکن و تا ده برابر حداکثر دوز نیز در هر دو روش تلقیح (داخل تخم مرغ یا زیرجلدی) کاملاً بی‌خطر بوده و هیچ‌گونه تاثیرات تضعیف‌کننده سیستم ایمنی در پرندگان دارای ایمنی مادری مشاهده نشده است"

واکسن ترانسمیون علیه بیماری گامبورو، حتی در زمان مصرف در پایین‌ترین سن ممکن و تا ده برابر حداکثر دوز نیز در هر دو روش تلقیح (داخل تخم مرغ یا زیرجلدی) کاملاً بی‌خطر بوده و هیچ‌گونه تاثیرات تضعیف‌کننده سیستم ایمنی در پرندگان دارای ایمنی مادری مشاهده نشده است

² Dossier

این حقیقت که واکسن ترانسمیون در بیش از ۶۰ کشور دنیا و نیز در اتحادیه اروپا (که از لحاظ قوانین ثبت واکسن بسیار سخت گیر می باشد) در حال مصرف می باشد حاکی از بی خطر بودن کامل این واکسن با تکنولوژی جدید است.

دیدگاه صنعت طیور:

بدون شک مطالعات کنترل شده علمی جهت بی خطر بودن هر واکسنی نیاز می باشد. با این وجود، مصرف بیش از حد یک واکسن در مزرعه اطلاعات بسیار خوبی را از یک واکسن تامین می کند.

در ارتباط با واکسن ترانسمیون پس از شروع به کار این واکسن در صنعت طیور در سال ۲۰۰۶ بیش از ۵۰ میلیارد دوز از این واکسن تا سال ۲۰۱۶ (قابل ارائه در این خبرنامه) در مزارع طیور گوشتی مختلف در سرتاسر جهان مصرف شده است. اعتباریابی واکسن در مصرف فارمی آن، هیچ شکلی را در بی خطر بودن واکسن باقی نمی گذارد. در واقع این بی خطری به همراه کارایی بسیار خوب در فارم، ترانسمیون را به پرمصرف ترین واکسن گامبورو در صنعت طیور گوشتی جهان تبدیل کرده است.

References

1. Allan, W.H.; Faragher, J.T.; agent in chickens immunized against Newcastle disease. Veterinary Record, 90: 511-512, 1972.
2. Cullen, G.A. The bursa: Fabricius to Delaware. Journal of the Royal Society of Medicine, 75: 507
3. Faragher, J.T.; Allan, W.H.; Wyeth P.J. Immunosuppressive effect of infectious bursal agent on vaccination against Newcastle disease. Veterinary Record; 95:17 385-388, 1974.
4. Herczeg, J.; Nagy, M.; Makransky, L.; Balla, E.; Kustos' K.; de Foucauld Thevenon, J.; Alva, B. Laboratory efficacy testing of subcutaneously administered Doubtless, controlled
5. Iván, J.; Velhner, Delayed vaccine virus replication in chickens vaccinated subcutaneously with an immune complex infectious bursal disease vaccine: Quantification of vaccine virus by real-time polymerase chain react 69:135-142, 2005.

واکسن ترانسمیون
در شرایط مختلف
فارمی بیش از ۵۰
میلیارد دوز مصرف
شده است و بر اساس
گفته های بزرگترین
شرکت های تولیدی
طیور هیچ شکلی در
بی خطر بودن این
واکسن وجود ندارد

6. Kelemen, M.; Forgach, K.; Ivan, J.; Palya, V.; Suveges, T.; Toth, B.; Meszaros, J.
Pathological and immunological study of an in ovo complex vaccine against infectious bursal disease. *AcVeterinaha Hungarica* 48 (4), 443-454 2000.
7. Kovács, E.W.; Felföldi, B.; Tatár-Kis, T.; Palya, V. Humoral immune response to ND vaccination in IBD vaccinated or bursectomized broilers. Reference of the study: SCI: 248-2012
8. Laboute, M. ; Cazaban, C. ; Albaric, O. ; Palya, V.; Avla, B.; Jacquinet, C.; Ramon, G. ; Gardin, Y. Kinetics of the development of immunity following the vaccination with an infectious bursal disease immune-complex vaccine. Proceedings of the World Veterinary Poultry Association Congress, 19 th - 23 rd August - Nantes, France, 2013.
9. Palya, V.; Forgách, K.; Süveges, T.; Kelemen, M.; Mészáros, J.; Benyeda, J. Control of infectious bursal disease by an immune complex vaccine. Proceedings of the 22nd World's Poultry Congress, June 8-13, Istanbul, Turkey, 2004.
10. Palya, V.;, Tatár-Kis, T.; Felföldi, B.; Gardin, Y. Compatibility of Vectormune® Transmune in day-old commercial broilers. Reference of the study: SIS # 02/2012/P/SSIU CP
11. Schat, K. A., and Skinner, M. A.. Avian immunosuppressive diseases and immune evasion. In: Davison, F., Kaspers, B., and Schat, K. A., Eds., *Avian immunology*, 1st ed. Elsevier, Amsterdam, 299-322, 2008.
12. . Weill, J.C. and Reynaud, C.A.. The chicken B cell compartment. *Science*, 238:10 1098, 1987.