Iranian Journal of Animal Science
Vol 51, No 3, Autumn 2020 (193-199)
DOI: 10.22059/ijas.2020.304474.653784

علوم دامی ایران
دورۀ ۵۱، شمارۀ ۳، پاییز ۱۳۹۹ (ص ۱۹۹-۱۹۳)

بررسی تأثیر باکتری *تسوکامورلا اینکوننسیس* بر عیار سرمی طیور گوشتی متعاقب واکسیناسیون علیه بیماری بورس عفونی

کتایون نفوذی[1*]، منیره خردادمهر[1] و حیدرضا رنجبر جمال آبادی[2]
۱. دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲. دانش‌آموخته دکتری تخصصی طیور، کلینیک طیور، یزد، استان یزد، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/٤/۲ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۵/۱۹)

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر باکتری غیرفعال‌شده *تسوکامورلا اینکوننسیس* (*Tsukamurella inchonensis*) بر پاسخ ایمنی حاصل از واکسیناسیون علیه بیماری بورس عفونی (Infectious bursal Disease) در طیور گوشتی انجام گرفته است. تعداد ۱۸۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه نژاد راس به پنج گروه ۳٦تایی تقسیم شده و از سن یک‌روزگی داخل قفس پرورش داده شدند. گروه‌های تیمار با افزودن 10^{6} باکتری غیرفعال‌شده به جیره فراهم شدند که در گروه اول این تعداد باکتری از روز اول تا سیزده به‌صورت ۲٤ ساعته، در دسترس طیور بودند. در گروه دوم، باکتری در روزهای ۱ تا ۵، ۸، ۹، ۱۲ و ۱۳ در طی روز به جیره اضافه می‌شد. گروه ۳، 10^{6} باکتری کشته‌شده را به‌صورت زیرجلدی در روزهای ۱، ٦ و ۱۲ دریافت کرد. گروه‌های ٤ و ۵ در طی دوره آزمایش باکتری دریافت نکردند. در ضمن، برای گروه پنج واکسیناسیون صورت نپذیرفت. در روزهای ۱، ۱٤، ۲۸ و ٤۲ از ۱۲ پرنده در هر گروه خون‌گیری تصادفی صورت گرفت. سنجش عیار آنتی‌بادی ضدبیماری بورس عفونی (گامبورو) با استفاده از کیت های تجاری و به روش الیزای ساندویچ دوگانه صورت پذیرفت. در گروه‌های تیمار، با هر روش تجویز *تسوکامورلا اینکوننسیس*، عیار آنتی‌بادی واکسن گامبورو افزایش یافته بود که این افزایش در گروه دو معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). به نظر می‌رسد *تسوکامورلا اینکوننسیس* به‌ویژه در صورت مصرف متناوب، منجر به افزایش اثر واکسن گامبورو شده و در نتیجه پاسخ ضد ویروسی را تقویت می‌کند.

واژه‌های کلیدی: اکتینومیست‌ها، پاسخ ایمنی، روش تجویز.

Effect of inactivated *Tsukamurella inchonensis* on post vaccination serum titer against infectious bursal disease in broiler chicks

Katayoon Nofouzi[1*], Monireh Khordadmehr[1] and Vahid Reza Ranjbar Jamalabadi[2]
1. Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2. Ph.D. Graduate, Clinic of Poultry Disease, Yazd Province, Yazd, Iran
(Received: Jun. 22, 2020 - Accepted: Aug. 9, 2020)

ABSTRACT

The present study was designed to investigate the effect of inactivated *Tsukamurella inchonensis* (*T. inchonensis*) on the immune response against infectious bursal disease (IBD) vaccination in broiler chicks. Ross broiler chicks in the cage (n= 180; one day old) were randomly assigned to five groups (36 birds in each group). Experimental diets were prepared by adding 10^{6} cells per bird of inactivated *T .inchonensis* into the commercial basal diet. For group the treatment was continuously dosed during 24 h from day 1 to day 13; and for group 2 during 24 h on days 1 to 5; 8; 9, 12 and 13. Group 3 was received 10^{6} bacteria as subcutaneous injection on days 1, 6, and 12. Groups 4 and 5 weren't received *T. inchonensis* during the experiment period. Blood was collected on days 1, 14, 28, and 42 from the wing vein of 12 birds, randomly per treatment. Serum IBD antibody titer were studied by ELISA, which measured by double-antibody sandwich ELISA using commercial kits. *T. inchonensis* treatments, irrespective of the routes of delivery, increased the antibody titers to IBD vaccines, especially when broiler chickens treated with pulse dosed in the feed (P<0.05). *T. inchonensis* augmented the effects of IBD vaccination in strengthening subsequent anti-viral responses.

Keywords: Actinomycetes, Immune responses, route of administration.

* Corresponding author E-mail: nofouzi@tabrizu.ac.ir

مقدمه

امروزه مزارع و غذاهای آلی برای انسان اهمیت زیادی دارند، چرا که مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها جهت درمان بیماری‌ها و بهداشت دام، منجر به ایجاد مقاومت دارویی نسبت به عوامل عفونی شده و به همین دلیل مقبولیت محصولاتی که از مواد طبیعی حاصل می‌شوند، چه برای مصرف انسانی و چه برای دام افزایش یافته است (Nofouzi *et al*., 2019). ارزیابی آنتی‌ژن‌های جدید به‌همراه کمک محرک‌ها، مفیدترین روش، جهت کسب ایمنی محافظتی علیه بیماری‌های طیور مانند نیوکاسل و آنفلوانزای طیور که به صنعت طیور خسارات اقتصادی قابل توجهی وارد می‌کنند، می‌باشد (Talebi *et al*., 2015). بررسی‌ها نشان داده است که باکتری‌های تنظیم‌کننده ایمنی بر پایه اکتینومیست‌های هوازی، می‌توانند اثرات مفیدی در شرایط عفونی و پاسخ‌های التهابی داشته باشند (Nofouzi *et al*., 2016). تنظیم ایمنی، فرایند مهمی در بیماری‌های عفونی، به‌ویژه بیماری‌های ویروسی می‌باشد. از طرفی کنترل برخی بیماری‌های عفونی به‌دلیل تنوع میکروارگانیسم ها، کیفیت پایین ذخیره و حمل و نقل واکسن‌ها و نیز وقوع بیماری‌های تضعیف‌کننده ایمنی دشوار می‌باشد (Hung *et al*., 2011).

بیماری بورس عفونی که بیماری گامبورو هم نامیده می‌شود، توسط یکی از اعضای خانواده بیرناویریده، جنس اوی بیرنا ویروس ایجادشده و منجر به عفونت ویروسی حاد، به‌شدت مسری در جوجه‌های جوان می‌شود (Besseboua *et al*., 2015). شیوع مخرب بیماری در بیشتر مناطق دنیا گزارش شده است (Farooq *et al*., 2003). اهمیت بیماری به‌دلیل مرگ‌ومیر بالا (Anjum *et al*., 1994)، کاهش تولید در جوجه‌های مبتلا (Shane *et al*., 1994) و افزایش حساسیت به دیگر عفونت‌هاست. علاوه بر این، جوجه‌ها، پاسخ ایمنی ضعیفی نسبت به واکسیناسیون علیه سایر عوامل بیماری‌زا دارند (Ali *et al*., 2004). در زمان شیوع بیماری، مرگ‌ومیر ممکن است بین ۱ تا ۵۰ درصد باشد (Hermann *et al*., 2003). در گله‌های با سن ۶-۳ هفته، میزان ابتلا ممکن است به بالای ۵۰٪ برسد ولی میزان مرگ‌ومیر به بیش از ۳٪ نمی‌رسد (Hermann *et al*., 2003). این بیماری منجر به خسارات اقتصادی شدید در صنعت طیور جهان می‌شود (Mahmood *et al*., 2006). ویروس گامبرو از جمله ویروس‌های هر جایی است که به ضدعفونی‌کننده‌های مختلف مقاوم است و در کل ویروس مقاومی محسوب می‌شود. استراتژی‌های کنترل بیماری گامبورو به‌طور عمده بر پایه برنامه واکسیناسیون می‌باشد.

اخیراً، چندین گونه اکتینومیست شامل رودوکوکوس کوروفیلوس (*Rhodococcus corophilus*)، گوردنیا برونکیالیس (*Gordonia bronchialis*) و تسوکامورلا اینکوننسیس (*Tsukamurella inchonensis*) شناسایی شده اند که قرابت زیادی با مایکوباکتریوم‌هایی دارند که قادر هستند به‌صورت سوسپانسیون باکتری غیرفعال شده، فعالیت‌های محرک ایمنی یا تنظیم ایمنی، داشته باشند. مطالعات نشان می‌دهد که اکتینومیست‌های هوازی قادر هستند سلول‌های T را بیشتر به سمت Th1 سوق دهند (Tarres *et al*., 2012). تسوکامورلا اینکوننسیس یک باکتری گرم مثبت میله‌ای است که به لحاظ شباهت ظاهری با کورینه باکتریوم‌ها اشتباه می‌شود. عفونت انسانی گونه‌های تسوکومورلا نادر بوده و محدود به گزارش‌هایی از باکتریمی ناشی از تسوکامورلا در افراد با نقص ایمنی که کاتتر دارند می‌باشد (Takebo *et al*., 2014; Schwarz *et al*.,2002) و اغلب این باکتری ساپروفیت به حساب می‌آید (Safaei *et al*., 2018). در خصوص اثرات مفید این باکتری پژوهش‌های زیادی انجام گرفته است. تسوکامورلا در پیشگیری از دیابت نوع دو مؤثر بوده است (Stanford & Stanford, 2012). همچنین در رت‌هایی که دیابت نوع یک داشتند اثرات محافظتی تسوکامورلا به اثبات رسیده است (Mesgari-Abbasi *et al*., 2019). این باکتری در درمان آسم نیز مؤثر بوده است، باعث کاهش ابتلا به سرماخوردگی شده و دفعات ابتلا به تب‌خال و طول دوره ابتلا را کاهش می‌دهد. در دامپزشکی تسوکامورلا باعث افزایش ایمنی ناشی از واکسن نیوکاسل در بلدرچین (Nofouzi *et al*., 2019b) و افزایش عیار آنتی‌بادی‌های نیوکاسل و انفلوانزا در طیور می‌شود (Talazadeh *et al*., 2016). در موش باعث کاهش التهاب (Nofouzi *et al*., 2017)

و افزایش ایمنی و بهبود عملکرد روده می‌شود (Nofouzi *et al*., 2016). همچنین این باکتری بر روی رشد و ایمنی ماهی قزل‌آلا اثرات مفیدی دارد (Nofouzi *et al*., 2019a).

در این مطالعه، امکان استفاده از باکتری غیرفعال‌شده *تسوکامورلا اینکوننسیس*، به‌عنوان محرک ایمنی جهت افزایش عیار آنتی‌بادی سرمی واکسن گامبورو مورد بررسی قرار گرفت. همچنین پاسخ‌های وابسته به روش‌های مختلف تجویز نیز، ارزیابی گردید.

مواد و روش‌ها

باکتری *تسوکامورلا اینکونسیس* کشت‌شده و غیرفعال‌شده با حرارت اتوکلاو، از شرکت BioEos (Kent, Uk) تهیه گردید. سپس ۱۸۰ قطعه جوجه یک روزه نژاد راس، در قالب یک طرح کاملا تصادفی، به پنج گروه مساوی طبق جدول ۱ طبقه‌بندی شدند. پرنده‌ها طبق توصیه‌های آخرین کاتالوگ پرورش مرغ گوشتی سویه راس به مدت ۴۲ روز پرورش داده شدند. به‌طور خلاصه، سه جیره آزمایشی بر پایه ذرت و سویا به‌صورت پلت جهت تغذیه آغازین (روز ۱ تا ۱۴)، رشد (روز ۱۴ تا ۲۸) و پایانی (روز ۲۸ تا ۴۲) تنظیم شد. جیره‌های آزمایشی فاقد هرگونه داروی ضدکوکسیدیوز و آنتی‌بیوتیک بودند (جدول ۲). تهویه سالن از طریق هواکش‌هایی که در سالن تعبیه شده بودند، انجام می‌شد. در ۴۸ ساعت اول، روشنایی به‌صورت کامل بود و پس از آن تا روز هشتم یک ساعت روزانه خاموشی داده شد. میانگین دمای سالن در طول دوره، ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵۵ درصد بود. در طول دوره آزمایش، آب و غذا به‌صورت آزاد در اختیار پرندگان قرار گرفتند. تمام گروه‌ها به‌جز گروه ۵، واکسن گامبورو (Razi, Iran) را به‌صورت آشامیدنی در ۱۴ روزگی دریافت کردند (جدول ۳). جیره تجاری گروه ۱ و ۲ با افزودن $۱۰^{۶}$ باکتری غیرفعال‌شده *تسوکامورلا اینکونسیس* در هر روز به‌ازای هر پرنده در جیره پایه تجاری فراهم گردید. تمامی مراحل آزمایش از مرحله پرورش تا انجام آزمایشات و در نهایت معدوم‌کردن پرندگان، مطابق قوانین کار با حیوانات آزمایشگاهی و اصول مصوب کمیته اخلاق دانشگاه تبریز صورت گرفت.

جدول ۱. طراحی تجربی مطالعه حاضر (تعداد=۳۶)

Table 1. The experimental design was performed in the presented study (n = 36)

Experimental groups	Treatment
First group	Vaccination + oral administration of Ti * at the days 1-13 continuously
Second group	Vaccination + oral administration of Ti * at the days 1-5, 8, 9, 12, 13
Third group	Vaccination + subcutaneous injection of Ti at the days 1, 6, 12
Fourth group	Vaccination + no bacteria treatment
Fifth group	No Vaccination + no bacteria treatment

* *Tsukamurella inchonensis* with 10^6 cells/day/bird.

* $۱۰^{۶}$باکتری غیرفعال‌شده *تسوکامورلا اینکوننسیس* در هر روز به‌ازای هر پرنده.

جدول ۲. ترکیب مواد تشکیل‌دهنده جیره و محتوای مواد مغذی گروه‌های آزمایش طیور گوشتی

Table 2. Ingredients and nutrient specifications of experimental diets of broiler chickens

Diet ingredients (%) & Properties	Starter (1-14 days)	Grower (14-28 days)	Finisher (28-42 days)
Corn	60.4	63.7	66.8
Soybean	34.2	29.7	26.2
Oil	1.50	2.80	3.50
Methionine	0.200	0.180	0.160
Lysine	0.170	0.150	0.070
DCP (Diclaium phosphate)	1.70	1.65	1.20
Oyster mount	0.900	0.900	1.20
NaCl	0.290	0.290	0.260
Vitamin Premix[a]	0.250	0.250	0.250
Mineral Premix[b]	0.250	0.250	0.250
Diet Properties			
Energy (Kcal/Kg diet)	3000	3130	3200
Protein %	20.5	18.7	17.4
Calcium %	0.950	0.920	0.870
Phosphorus%	0.450	0.440	0.400

a: مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم از خوراک، مقادیر زیر را تامین می‌کند: ویتامین A، ۲/۷ میلی گرم، ویتامین D3، ۰/۰۵ میلی گرم، ویتامین E، ۱۸ میلی گرم، بیوتین ۰/۱ میلی گرم، فولیک اسید، ۱ میلی گرم، کولین کلراید، ۲۵۰ میلی گرم، آنتی اکسیدان، ۱۰۰ میلی گرم.

b: مکمل معدنی در هر کیلوگرم از خوراک، مقادیر زیر را تامین می‌کند: آهن (سولفات آهن)، ۵۰ میلی گرم، منگنز (اکسید منگنز)، ۱۰۰ میلی گرم، روی (اکسید روی)، ۱۰۰ میلی گرم، مس (سولفات مس)، ۱۰ میلی گرم، ید (یدات کلسیم)، ۱ میلی گرم، سلنیوم، ۰/۲ میلی گرم.

a: Vitamin premix per kg of diet: vitamin A (retinol), 2.70 mg; vitamin D3 (cholecaciferol), 0.050 mg; vitamin E (tocopheryl acetate), 18 mg;biotin, 0.100 mg; folic acid, 1 mg; choline chloride 250 mg; 100 mg ethoxxyquin as antioxidant

b: Mineral premix per kg of diet: Fe ($FeSO_4.7H_2O$, 20.09 % Fe), 50 mg; Mn (MnSO4.H2o, 32.49 % Mn), 100 mg; Zn (ZnO, 80.3 % Zn), 100 mg; Cu ($CuSO_4.5H_2O$), 10 mg; I (KI, 58 % I), 1 mg; Se ($NaSeO_3$, 45.56 % Se) 0.2 mg.

جدول ۳. برنامه واکسیناسیون مطالعه حاضر

Table 3. Vaccination program that was used in the present study

Days	Vaccines	Administration method
1	Combined ND - IB (B1 and H-120)	Eye drops
7	Combined ND (V8)-AI (H9N2)	Injection
9	IB (4-91)	Eye drops
14	IBD (Gumboro) (IBD07IR)	Oral
18	ND (La Sota)	Eye drops
28	ND (La Sota)	Eye drops

ND: Newcastle Disease; IB: Infectious Bronchitis; AI: Avian Influenza; IBD: Infectious Bursal Disease.

نمونه‌گیری

خون‌گیری به‌صورت تصادفی از ورید بال ۱۲ پرنده در روزهای ۱، ۱۴، ۲۸ و ۴۲ انجام گرفت. سرم‌ها با سانتریفیوژ کردن خون، تهیه شد و در منفی ۲۰ درجه سلسیوس تا زمان استفاده ذخیره شدند.

عیار آنتی‌بادی سرمی با روش الیزا ارزیابی شد که از روش الیزای ساندویچ دوگانه با استفاده از کیت تجاری (IDEXX، فرانسه)،طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. نتایج حاصل از آزمایش با استفاده از دستگاه قرائت الیزا و در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید.

روش آماری

داده‌های به‌دست‌آمده در گروه‌های مورد بررسی با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ و با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه آزمون LSD مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتایج و بحث

عیار آنتی‌بادی ضد گامبرو در جدول ۴ آورده شده است. عیار مادری گروهی که واکسن دریافت نکرده است، به تدریج کاهش پیدا کرده و در روز ۴۲ به حداقل مقدار خود رسیده است ولی عیار آنتی‌بادی جوجه‌های واکسینه، به دنبال واکسیناسیون با واکسن رازی افزایش یافته است. همان‌گونه که در جدول ۴ نشان داده شده است. جوجه‌های واکسینه تیمارشده با *تسوکامورلا اینکوننسیس*، عیار آنتی‌بادی بالاتری نسبت به جوجه‌هایی که فقط واکسینه شده ولی با باکتری غیرفعال‌شده *تسوکامورلا اینکوننسیس* تیمار نشده بودند، دارند.

جدول ۴. عیار آنتی‌بادی ضد بیماری بورس عفونی در گروه‌های آزمایش. (تیتر آنتی‌بادی مادری در روز اول برابر ۱۱۰۰۰ ± ۱۰۰۰ بود)

Table 4. ELISA antibody titers (mean ± SD) against IBD virus in experimental groups. (The maternal antibody titer on the first day was 11000 ± 1000)

Groups	IBD antibody titers		
	D 14	D 28	D 42
1	900 ± 158.1[a]	9125± 2031 [a]	9714 ± 2214[b]
2	925 ± 100[a]	9375 ± 1846[a]	12000 ± 408 [a]
3	800 ± 81.6[a]	8375± 1407 [a]	9185 ± 1809 [b]
4	775 ± 95.7[a]	9125 ± 834 [a]	9142 ± 1463 [b]
5	750 ± 126[b]	51 ± 19 [b]	2.1 ± 1.06 [c]

حروف نامشابه بین تیمارها در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

a-c: values within a column followed by different letters are significantly different (P<0.05).

تسوکامورلا اینکوننسیس کمک محرک مناسبی می‌باشد که باعث افزایش ازدیاد حساسیت تأخیری در موش می‌شود (Nofouzi *et al*., 2016). همچنین تجویز خوراکی *تسوکامورلا اینکوننسیس* باعث افزایش IgA سرم در بلدرچین می‌شود. عیار آنتی‌بادی ضد نیوکاسل نیز در بلدرچین به دنبال مصرف خوراکی *تسوکامورلا اینکوننسیس* افزایش یافته است (Nofouzi *et al*., 2019b). بیماری گامبورو منجر به تحلیل فولیکول‌های لنفاوی بورس شده و در نتیجه باعث کاهش معنی‌دار در پاسخ‌های ایمنی هومورال می‌شود. در بیماری بورس عفونی، سلول‌های B نابالغ یا پیش‌ساز بیشتر از سلول‌های B بالغ درگیر می‌شوند. این بیماری در سرتاسر دنیا مشکلات اساسی به صنعت طیور وارد می‌کند ولی به‌دلیل ماهیت تحت بالینی بیماری، اغلب شناسایی نمی‌شود. جوجه‌های مبتلا، در قبال واکسیناسیون، پاسخ آنتی‌بادی ضعیف‌تری داشته و واکنش‌های پس از واکسیناسیون شدیدتری نشان می‌دهند. در عین حال به بیماری‌های هم‌زمان و عفونت‌های ثانویه، حساس‌تر می‌باشند (Wu *et al*., 2000). واکسن‌های مرسوم

گامبورو، جهت تحریک سلول‌های B توسعه یافته‌اند. هرچند مطالعات اخیر، اهمیت سلول‌های T را در پاتوژنز بیماری گامبورو اثبات می‌کند، و نشان می‌دهد که نقش ایمنی سلولی در عفونت‌های بیماری گامبورو، بیشتر از آن چیزی است که در گذشته متصور می‌شدند (Rautenschlein *et al*., 2002; William & Davison, 2005). پژوهش‌های پیشین، نقش اکتینومیست‌ها را در ارتقای ایمنی سلولی به اثبات رسانده است (Turner *et al*., 1976; Nofouzi *et al*., 2016). اینترفرون‌ها به‌دلیل ویژگی ضد ویروسی که دارند، به این نام، اسم‌گذاری شده‌اند. اینترفرون‌ها شامل اینترفرون‌های تیپ ۱ که به‌دلیل فعالیت ضدویروسی شناخته‌شده هستند و اینترفرون‌های تیپ ۲ یا گاما-انترفرون که علاوه بر فعالیت ضد ویروسی، در فعال‌شدن ماکروفاژها و تنظیم سیستم ایمنی، نقش حیاتی دارند، می‌باشند (Wigley & Kaiser, 2002). تجویز خوراکی *تسوکامورلا اینکوننسیس* در بلدرچین، باعث افزایش سطح اینترفرون آلفا و گاما می‌شود. همچنین *تسوکامورلا اینکوننسیس* باعث افزایش تولید اینترلوکین-۴ در بلدرچین می‌شود (Nofouzi *et al*., 2019b) که بیانگر اثر تنظیم‌کننده ایمنی *تسوکامورلا اینکوننسیس* می‌تواند باشد.

روش مرسوم کنترل بیماری گامبورو ماکیان از طریق ایمنی فعال می‌باشد (Hung *et al*., 2011). هرچند، واکسن‌های موجود تخفیف حدت یافته یا غیرفعال، حفاظت کافی را علیه سویه‌های بسیار حاد ویروس فراهم فراهم نمی‌کنند (Xu *et al*., 2001). بنابراین ارتقای اثربخشی واکسن گامبورو، مساله حائز اهمیتی می‌باشد. طبق نتایج پژوهش حاضر، در روش متناوب مصرف خوراکی *تسوکامورلا اینکوننسیس*، عیار آنتی‌بادی در هفته ششم به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (جدول ۴). در پژوهش‌های پیشین نشان داده شده است که اگر جوجه‌های یک روزه با جیره و یا بدون اسید آسکوربیک تغذیه شوند و در روز هفت، واکسن ضد گامبورو دریافت کنند و در عین حال با ویروس گامبورو آلوده شوند، گروه دریافت‌کننده اسید آسکوربیک، سلول‌های تولیدکننده آنتی‌بادی ضدگامبوروی بیشتری خواهند داشت (Wu *et al*., 2000). مطالعه مشابهی نشان داد که تجویز خوراکی ال-آرژنین، باعث افزایش عیار آنتی‌بادی واکسن گامبورو شده و بعد از چالش با ویروس گامبورو، در مقایسه با گروه کنترل، اثر محافظتی بیشتری دارد (Tayade *et al*., 2006). این نتایج نشان می‌دهد که افزایش عیار آنتی‌بادی ضد گامبورو نسبت به واکسن گامبورو، باعث افزایش ایمنی مؤثر علیه عفونت بیماری بورس عفونی می‌شود.

پاسخ ایمنی پس از دریافت واکسن گامبورو، در گروه دو بیشتر از گروه یک و در گروه یک بیشتر از گروه سه بود. به‌عبارتی روش‌های خوراکی در مقایسه با روش تزریقی ایمنی‌زایی بهتری داشتند. به‌نظر می‌رسد *تسوکامورلا اینکوننسیس* فعالیت ادجوانتی مناسبی با واکسن گامبورو دارد. چنین ادجوانت‌هایی، تحریک پاسخ‌های ایمنی را متعادل کرده و به‌دلیل اثرات زیان‌آور کمتر، جهت ایجاد ایمنی مؤثر علیه بیماری‌های عفونی، گزینه مناسبی محسوب می‌شوند.

نتیجه‌گیری کلی

در کل، نتایج پژوهش نشان داد که *تسوکامورلا اینکوننسیس* در ارتقای ایمنی علیه بیماری گامبورو مؤثر است. ازآنجایی‌که سیستم ایمنی ماکیان به پستانداران شباهت دارد، طیور مدل مناسبی برای مطالعه اثربخشی افزودن *تسوکامورلا اینکوننسیس* در کنترل بیماری انسان و چهارپایان می‌باشد. به‌نظر می‌رسد، روش استفاده از باکتری غیرفعال شده *تسوکامورلا اینکوننسیس* در ارتقای بهداشت دام و طیور، روش ساده و ارزانی به‌حساب می‌آید.

سپاسگزاری

از دکتر گراهام مک اینتایر جهت تهیه و ارسال باکتری *تسوکامورلا اینکوننسیس*، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Ali, A.S., Abdalla, M.O. & Mohammed, M.E.H. (2004). Interaction between Newcastle disease and infectious bursal disease vaccines commonly used in Sudan. *International Journal of Poultry Science*, 3, 300-304.

2. Anjum, A.D., Sabri, G.S. & Jamshidi, K. (1994). Occurrence spread and control of infectious bursal disease in Pakistan. *Proceedings of 1st PPAPVMA Punjab, International Poultry Conference*, Punjab, India, March 30 – April 01, 1994, pp. 57-59.
3. Besseboua, O., Agad, A. & Benbarek, H. (2015). Determination of the optimal time of vaccination against infectious bursal disease virus (Gumboro) in Algeria. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 82 (1), 1-6.
4. Farooq, M., Durrani, F.R., Imran, N., Durrani, Z. & Chand, N. (2003). Prevalence and economic losses due to infectious bursal disease in broilers in Mirpur and Kolti districts of Kashmir. *International Journal of Poultry Science*, 2(4), 267-270.
5. Hermann, M., Rafiqul Islam, M.D. & Raue, R. (2003). Research on infectious bursal disease: The past, the present and the future. *Veterinary Microbiology*, 97, 153-165.
6. Hung, C.M., Yeh, C.C., Chong, K.Y., Chen, H.L., Chen, J.Y., Kao, S.T., Yen, C.C., Yeh, M.H., Lin, M.S. & Chen, C.M. (2011). Giango-San enhances immunity and potentiates infectious bursal disease vaccination. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011:238208.
7. Mahmood, M.S., Siddique, M., Hussain, I., Khan, A. & Mansoor, M.K. (2006). Protection capability of recombinant plasmid DNA vaccine containing VP2 gene of very virulent infectious bursal disease virus in chickens adjuvanted with CpG oligodeoxynucleotide. *Vaccine*, 24, 4838-4846.
8. Mesgari-Abbasi, M., Ghaderi, S., Khordadmehr, M., Nofouzi, K., Tayefi-Nasrabadi, H. & McIntyre, G. (2019). Enteroprotective effect of *Tsukamurella inchonensis* on streptozotocin induced type 1 diabetic rats. *Turkish Journal of Biochemistry*, 44 (5), 683-691.
9. Nofouzi, K., Sheikhzadeh, N., Varshoie, H., khadir-Sharabyani, S., Jafarnezhad, M., Shabanzadeh, S., Ahmadifar, E., Stanford, J. & Shahbazfar, A.A. (2019a). Beneficial effects of killed *Tsukamurella inchonensis* on rainbow trout growth, intestinal histology, immunological, and biochemical parameters. *Fish Physiology and Biochemistry*, 45, 209-217.
10. Nofouzi, K., Hasanzadeh, A., Khordadmehr, M., Madadi, M.S., Ranjbar, V.R. & McIntyre, G. (2019b). Effects of spraying different dietary Killed *Tsukamurella inchonensis* levels on growth performance, small intestine morphometry, and immune responses in Newcastle disease vaccinated Japanese quails. *Journal of Animal Science Researches*, 29 (2), 73-89. (In Farsi)
11. Nofouzi, K., Aghapour, M., Baradaran, B., Hamidian, Gh., Zare, P., Stanford, J., Ripley, P., Tahapour, K., Jafari, K., Shahbazfar, A.A. & Tukmechi, A. (2017). *Veterinarni Medicina*, 62 (12), 668-673.
12. Nofouzi, K., Aghapour, M., Hamidian, G.H., Katiraee, F., Stanford, J. & Ripley, P. (2016). Oral administration of heat killed *Tsukamurella inchonensis* enhances immune responses and intestinal function in mice. *Veterinarni Medicina-Czech*, 61, 681-688.
13. Rautenschlein, S., Yeh, H.Y., Njenga, M.K. & Sharma, J.M. (2002). Role of intrabursal T cells in infectious bursal disease virus (IBDV) infection: T cells promote viral clearance but delay follicular recovery. *Archives Virology*, 147, 285-304.
14. Safaei, S., Fatahi-Bafghi, M. & Pouresmaeli, O. (2018). Role of Tsukamurella species in human infectious: first literature review. *New Microbes New Infect*, 22, 6-12.
15. Schwartz, M.A., Tabet, S.R., Collier, A.C., Wallis, C.K., Carlson, L.C., Nguyen, T.T., Kattar, M.M. & Coyle, M.B. (2002). Central venous catheter-related bacteremia due to Tsukamurella in the immunocompromised host: A case series and review of literature. Clinical Infectious Diseases, 2002: 35e, 72-7.
16. Shane, S.M., Lasher, H.N. & Paxton, K.W. (1994). Economic impact of infectious bursal disease and prevalence of antigenic variation for protection in infectious bursal disease', *Proceedings of the 2nd International Symposium on infectious bursal to disease (IBD) and chicken infectious anemia (CIA)*, Rauischholzhausen, Germany, June 21–24, 1994, pp. 196-203.
17. Stanford, J., Stanford, C. (2012). Mycobacteria and their world. International *Journal of Microbiology*, 3-12.
18. Takebe, I., Sawabe, E., Ohkusu, K., Tojo, N., Tohda, S. (2014). Catheter-related bloodstream infection by *T. inchonensis* in an immunocompromised patient. Journal of Clinical Microbiology, 52 (6), 2251-2253.
19. Talazadeh, F., Mayahi, M., Nofouzi, K., Golzar, E. & Chegini, R. (2016). The effect of *Tsukamurella inchonensis* bacterin on the immune resonses against influenza and Newcastle disease vaccines in broiler chickens. *International Journal of Enteric Pathogens*, 4 (4), e37107.
20. Talebi, A., Amani, S., Pourmahmod, M., Saghaei, P. & Rezaie, R. (2015). Symbiotic enhances immune responses against infectious bronchitis, infectious bursal disease, Newcastle disease and avian influenza in broiler chickens. *Veterinary Research Forum*, 6 (3), 191-197.
21. Tarres, M.C., Gayol, M., Picena, J.C., Alet, N., Bottasso, O. & McIntyre, G. (2012). Beneficial effects of immunotherapy with extracts derived from Actinomycetales on rats with spontaneous obesity and diabetes. *Immunotherapy*, 4 (5), 1-11.
22. Tayade, C., Koti, M. & Mishra, S.C. (2006). L-Arginine stimulates intestinal intraepithelial

lymphocyte functions and immune response in chickens orally immunized with live intermediate plus strain of infectious bursal disease vaccine. *Vaccine*, 24, 5473-5480.

23. Turner, D. W., Roberson, B.S. & Longton, R.W. (1976). Cell-mediated immune response to products of *Actinomyces viscosus* cultures. Infection and Immunity, 14 (2), 372-375.
24. Wigley, P. & Kaiser, P. (2003). Avian cytokines in health and disease. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 5, 1-14.
25. Williams, A.E. & Davision, T.F. (2005). Enhanced immunopathology induced by very virulent infectious bursal disease virus. Avian Pathology, 34 (1), 4-14.
26. Wu, C.C., Dorairajan, T. & Lin, T.L. (2000). Effect of ascorbic acid supplementation on the immune response of chickens vaccinated and challenged with infectious bursal disease virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 74, 145-152.
27. Yu, L., Li, J.R., Huang, Y.W., Dikki, J. & Deng, R. (2001). Molecular characteristics of full-length of genomic segment A of three infectious bursal disease viruses in China: two attenuated and a field virulent strain. *Avian Diseases*, 45, 862-874.