



## تأثیر تزریق سطوح مختلف واکسن غیر فعال نیوکاسل سویه v4 بر سطح سرمی هورمونهای

### تیروئیدی در جوجه های گوشتی (*in ovo vaccination*)

عباس عالی<sup>۱\*</sup>، کامبیز ناظر عدل<sup>۲</sup>، احد شاددل<sup>۲</sup>، سید مهدی موسویان<sup>۳</sup>، ایرج خلیلی<sup>۳</sup> و مرتضی کیانی نهند<sup>۱</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر-۲ گروه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر-۳

موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، شعبه شمالغرب کشور

\* نویسنده مسئول: عباس عالی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر

[ab.aali18@yahoo.com](mailto:ab.aali18@yahoo.com)

#### چکیده

این مطالعه برای تعیین بهترین دز تزریقی واکسن نیوکاسل به داخل تخم مرغ با هدف پایین نگاه داشتن تنش تحمیل شده جنین از تغییرات هورمون های T4 و T3، در جنین های مورد تزریق انجام شد. آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی در ۵ تیمار و ۳ تکرار و در هر تکرار ۳۳ عدد تخم مرغ سویه راس ۳۰۸ به انجام رسید که شامل تزریق واکسن نیوکاسل در ۳ سطح ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ میکرولیتر، تزریق بافر P.B.S و گروه بدون تزریق (شاهد) بود که در هجدهمین روز انکوباسیون، مورد تزریق قرار گرفتند. پس از هج، تیمارهای آزمایشی در شرایط مناسب با جیره غذایی بر پایه ذرت و کنجاله سویا پرورش یافته و در روزهای ۱، ۲، ۳، ۷، ۲۱ و ۴۲ روزگی خونگیری شده و سرم آنها جهت تست کمیولومینسانس مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به وسیله نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و نشان داد که در نمونه های ۱ و ۲ روزگی بین میانگین غلظت T3 و T4 در تیمارهای تزریق ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرولیتر واکسن در مقایسه با گروه P.B.S و شاهد اختلاف معنی داری وجود دارد و در مقایسه تیمارهای دریافت کننده واکسن با دزهای مختلف، اختلاف معنی داری در سطح هورمونهای T3, T4 دیده نشد.

واژگان کلیدی: هورمونهای تیروئیدی، واکسن نیوکاسل، تست کمیولومینسانس، تزریق داخل تخم مرغی

#### مقدمه

انتخاب نوع و حجم ماده مورد تزریق، محل و سن تخم مرغ، نحوه تزریق و ارزیابی های بالینی جوجه های پس از هج و تغییرات مثبت و یا منفی در حین دوران پرورش و تولید از موارد حائز اهمیت در تکنولوژی تزریق داخل تخم مرغی است. بهترین محل تزریق واکسن غیر فعال روغنی، انتهای باریک تخم مرغ است. پس از روزهای دهم و یازدهم انکوباسیون، غده تیروئید توانایی ترشح تیروکسین را پیدا کرده و قبل از خروج جوجه از تخم مرغ فعالیت تیروئید افزایش می یابد (دکوپی، ۲۰۰۵). T3 (T4) پس از تبدیل شدن به T3 (T3) بسیاری از فعالیتهای بیولوژیکی از جمله بیان ژن و سنتز پروتئین که با عنوان تقابل ایمنی هیپوفیز- تیروئید معروف است، را تحت تاثیر قرار می دهد (بگریاسیک، ۲۰۰۵). در این مطالعه سطوح هورمونهای T4 و T3 در ۴۸ ساعت پس از هج در جوجه هایی که مورد تزریق داخل تخم مرغی واکسن حاوی آنتی ژن نیوکاسل قرار گرفته بودند کاهش معنی دار یافت. بررسی تغییرات سطوح هورمونهای تیروئیدی در مقابله با آنتی ژن عرضه شده به روش داخل تخم مرغی در طی دوره پرورش جوجه های گوشتی سویه راس ۳۰۸ از اهداف این مطالعه می باشد.



## مواد و روش ها

تعداد ۵۵۰ عدد تخم مرغ سویه راس ۳۰۸ (در سن ۴۰ هفتگی تولید) با شکل و وزن یکسان انتخاب شده و پس از گازدهی در ستر با دمای ۹۹/۵ درجه فارنهایت و ۸۷ درصد رطوبت قرار داده شدند. در پایان روز هیجدهم، پس از خارج کردن تخم مرغها و طی پروسه کندلینگ، تخم مرغهای بدون نطفه و جنین مرده یا ضعیف حذف و کیسه های هوائی با مداد علامت گذاری شدند. تخم مرغها در ۵ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار به صورت کاملاً تصادفی تقسیم بندی شدند. مرکز کیسه های هوائی توسط پانچر، بدون ایجاد ترک خوردگی سوراخ شد. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار شاهد، تیمار تزریق pbs، تیمارهای تزریق واکسن با حجم ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرولیتر بود. تزریق توسط سوزن شماره ۲۷ با طول ۵/۵ سانتی متر که پس از هر تزریق مورد ضد عفونی قرار می گرفت انجام شد (استون، ۱۹۹۸). پس از اتمام تزریق، درز بندی انجام گرفته و تخم مرغها در تیمارهای مجزا به دستگاه هچر منتقل شدند. در روزهای ۱، ۲، ۳، ۷، ۲۱ و ۴۲ پس از هچ، خونگیری از ناحیه قلب به عمل آمد. پس از جداسازی سرم، نمونه ها تحت آزمایش کمیولومینسانس برای تعیین مقدار T3 و T4 قرار گرفتند.

## نتایج و بحث

غلظت هورمونهای T3 و T4 جوجه های گوشتی در روزهای ۱ و ۲ رشد به ترتیب  $3/5 \text{ ng/ml}$  و  $1 \text{ } \mu\text{g/dl}$  می باشد که این مقدار تا روز سوم کاهش داشته ولی پس از آن تا ۴۲ روزگی به ترتیب به  $5 \text{ ng/ml}$  و  $1/5 \text{ } \mu\text{g/dl}$  افزایش می یابد. همچنین غلظت این هورمونها از روز ۳ تا ۴۲ روزگی افزایش و در ادامه کاهش نشان خواهد داد (کبیر، ۲۰۰۲).

با مقایسه نتایج بدست آمده از غلظت هورمونهای T3 و T4 در بین روزهای مختلف خونگیری مشاهده شد که در اکثر روزهای خونگیری از نظر آماری بین تیمار شاهد و تیمار P.B.S اختلاف معنی داری وجود ندارد و این موضوع بیانگر عدم اثر منفی تزریق واکسن بر غلظت این دو هورمون در تیمارهای آزمایشی می باشد. با مقایسه نتایج در سرم تیمارهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرولیتر با تیمار P.B.S و شاهد تا روز دوم خونگیری اختلاف معنی داری مشاهده شد اما غلظت هورمونهای مذکور در روزهای ۳، ۷، ۲۱ و ۴۲ خونگیری از نظر آماری اختلاف معنی دار نبود ( $p > 0.05$ )، در ضمن با مقایسه غلظت هورمون T4 در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده شد که از نظر آماری بین تیمارهای ۱۰۰ و ۳۰۰ با تیمار شاهد اختلاف معنی داری وجود داشته در صورتی که این اختلاف در رابطه با تیمار ۲۰۰ میکرولیتر معنی دار نبود. چنین به نظر می رسد که تیمار ۲۰۰ میکرولیتر در رابطه با غلظت هورمون T4 در بین روزهای خونگیری از عملکرد مناسبی نسبت به تیمارهای ۱۰۰ و ۳۰۰ برخوردار بوده است که این موضوع در مورد غلظت هورمون T3 صادق نبوده به طوری که در اکثر روزهای خونگیری بین تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۳۰۰ اختلاف معنی داری وجود نداشت. با خونگیری از تیمارهای آزمایشی در روزهای ۱ و ۲ مشاهده شد که غلظت هورمونهای T3 و T4 به ترتیب  $4/22$ ،  $4/05$ ،  $4/12$  و  $1/47$ ،  $1/40$ ،  $1/39$  بود.

جدول ۱: مقایسه میانگین غلظت هورمون T<sub>3</sub> برای تیمارهای مختلف در زمان های خونگیری

خطای استاندارد میانگین	ارزش p	۳۰۰	۲۰۰	۱۰۰	p.b.s	شاهد	روزهای خونگیری
۰/۰۴۷	p<۰/۰۰۰۱	۳/۶۴ <sup>b</sup>	۳/۴۴ <sup>b</sup>	۳/۳۵ <sup>b</sup>	۴/۰۸ <sup>a</sup>	۴/۲۲ <sup>a</sup>	۱
۰/۰۳۰	p<۰/۰۰۰۱	۳/۶۵ <sup>c</sup>	۳/۷۵ <sup>b</sup>	۳/۶۵ <sup>c</sup>	۴/۰۲ <sup>a</sup>	۴/۰۵ <sup>a</sup>	۲
۰/۰۵۱	p<۰/۲۷۰	۳/۹۶ <sup>a</sup>	۴/۰۰ <sup>a</sup>	۴/۰۸ <sup>a</sup>	۴/۰۳ <sup>a</sup>	۴/۱۲ <sup>a</sup>	۳
۰/۰۶۰	p<۰/۳۹۲	۴/۲۲ <sup>a</sup>	۴/۲۴ <sup>a</sup>	۴/۲۰ <sup>a</sup>	۴/۲۰ <sup>a</sup>	۴/۳۶ <sup>a</sup>	۷
۰/۰۳۱	p<۰/۱۴۳	۴/۳۰ <sup>ab</sup>	۴/۳۰ <sup>ab</sup>	۴/۲۷ <sup>b</sup>	۴/۳۷ <sup>ab</sup>	۴/۴۰ <sup>a</sup>	۲۱
۰/۰۴۰	p<۰/۲۲۴	۴/۲۵ <sup>a</sup>	۴/۲۷ <sup>a</sup>	۴/۲۷ <sup>a</sup>	۴/۲۴ <sup>a</sup>	۴/۳۳ <sup>a</sup>	۴۲

جدول ۲: مقایسه میانگین غلظت هورمون T<sub>4</sub> برای تیمارهای مختلف در زمان های خونگیری

خطای استاندارد میانگین	ارزش p	۳۰۰	۲۰۰	۱۰۰	p.b.s	شاهد	روزهای خونگیری
۰/۰۰۹	p<۰/۰۰۰۱	۱/۲۳ <sup>c</sup>	۱/۲۴ <sup>c</sup>	۱/۲۲ <sup>c</sup>	۱/۴۱ <sup>b</sup>	۱/۴۷ <sup>a</sup>	۱
۰/۰۱۲	p<۰/۰۰۰۱	۱/۲۷ <sup>b</sup>	۱/۲۹ <sup>b</sup>	۱/۲۷ <sup>b</sup>	۱/۳۷ <sup>a</sup>	۱/۴۰ <sup>a</sup>	۲
۰/۰۰۶	p<۰/۲۱۲	۱/۳۹ <sup>b</sup>	۱/۴۱ <sup>a</sup>	۱/۴۰ <sup>ab</sup>	۱/۳۸ <sup>b</sup>	۱/۳۹ <sup>ab</sup>	۳
۰/۰۰۹	p<۰/۱۱۷	۱/۴۳ <sup>b</sup>	۱/۴۵ <sup>ab</sup>	۱/۴۳ <sup>b</sup>	۱/۴۴ <sup>ab</sup>	۱/۴۶ <sup>a</sup>	۷
۰/۰۱۰	p<۰/۰۲۸	۱/۴۲ <sup>b</sup>	۱/۴۵ <sup>ab</sup>	۱/۴۲ <sup>b</sup>	۱/۴۵ <sup>ab</sup>	۱/۴۷ <sup>a</sup>	۲۱
۰/۰۰۹	p<۰/۰۵۹	۱/۴۲ <sup>b</sup>	۱/۴۵ <sup>ab</sup>	۱/۴۲ <sup>b</sup>	۱/۴۴ <sup>ab</sup>	۱/۴۶ <sup>a</sup>	۴۲

حروف (a,b,c) دارای اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ می باشد.

### نتیجه گیری کلی

کاهش معنی داری در غلظت سرمی هورمونهای T<sub>3</sub> و T<sub>4</sub> در تیمارهای آزمایشی در اولین روز های خونگیری مشاهده شد ولی در روز سوم و به بعد به سطح طبیعی خود بازگشت.



## منابع

- 1) Umit Bagriacik, E., Z, hou, Q., Ching W. and J, Klein, 2001. Rapid and Transient Reduction in Circulating Thyroid Hormones Following Systemic Antigen Priming : Implications for Functional Collaboration between Dendritic Cells and Thyroid Cellular Immunology., **212**:92-100.
- 2) Decuypere E., p. Van As. and van der Geyten, V.M. Darras., 2005. Thyroid hormone availability and activity in avian species: A review Domestic Animal Endocrinology **29**:63-77.
- 3) Stone, 1998. *In ovo* Immunization of Avian Embryos with oil- Emulsion Vaccine., pat. no .5,817,320
- 4) Berry, MJ., A-L, Kates., and PR, Larsen 1990. Thyroid hormone regulates type I deiodinase messenger RNA in rat liver. Mol Endocrinol., **4**:743-8.

## Effects of *in ovo* inoculation of Newcastle v4 inactive vaccine on thyroid hormone levels in newly-hatched chicks

Abbas Aali<sup>1\*</sup>, Kambiz nazeradl<sup>2</sup>, Ahad Shaddel<sup>2</sup> and Seyed Mehdi Mousaviyan<sup>3</sup>, Iraj khalili<sup>3</sup> and Morteza Kiani Nahand<sup>1</sup>

2. Department of Animal Science, Islamic Azad University, Shabestar Branch

3. Department Q. C. of Razi Vaccine & Serum Research Institute, Northwest Branch.

\*ab.aali18@Yahoo.com

### Abstract

This study was conducted to determination of optimal inoculation dosage of newcastle vaccine, with respect of keeping minimal impose steres on embryo ,T3 and T4 levels of chicks, that were infutated, were analyzed. The design of The experiment was Completely Randomized Design (CRD) in 5 groups with 3 replicates. Each replicates contains 33 eggs (Ross308 broiler chicken). 3 groups were inoculated Newcastle vaccine in 100, 200 and 300 micro liter levels, one group buffer P.B.S ( 200 micro liter) and one group as a blank, totally in 18<sup>th</sup> day of incubation, Chicks were fostered with corn and soybean Meal in suitable and same condition. at 1, 2, 3, 7, 21 and 42 days Post Hatch blood were collected and serums were evaluated with chemiluminisance method. Results were statistically analysed With SAS program and shows, significant difference in T3 and T4 levels of 1th and 2th days. serum samples in 3 treated groups in comparison of blank or group treated with p.b.s. There were no significant differences in T3 and T4 serum levels, between treated and non treated groups at 3,7,21 and 42 days post hatch.

**Keywords:** Thyroid hormones, Newcastle vaccine, chemiluminisance test, *inovo* inoculation.