Archive of SID

بیماریزای پرندگان E.coli فن آوری نوین در توسعه واکسن علیه باکتری (Bacterial Ghost): شبح باکتریایی

Bacterial Ghosts: A Novel Technology for Development of Vaccine against Avian Pathogenic E.coli (APEC)

محمدرضا باسامی
عضو هیات علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

کلی باسیلوز طیور یک بیماری شایع، سیستمیک و با پراکنش جهانی است که همه ساله ضررهای اقتصادی فراوانی را به این صنعت وارد می‌کند. این عفونت که توسط باکتری اشرشیاکلی ایجاد می‌شود می‌تواند اشکال متنوعی از سطح حاد، مانند سپتی سمی تا تحت حاد، از جمله پریکاردیت، پری هپاتیت، آرتریت، تورم کیسه های هوایی و بعضا سلولیت را ایجاد نماید (۱-۴). در میان عفونت‌های باکتریایی موجود در صنعت طیور، کلی باسیلوز بیشترین فراوانی را در ابتلا و مرگ و میر دارد. در مرغداری‌ها باکتری E.coli به فراوانی در روده، محیط داخل و فضای اطراف سالن یافت می‌شود. این باکتری دارای سروتایپ های متعددی می باشد که همه آنان بیماری زا نمی باشند. در مقابل سروتایپ های متعددی نیز بیماریزا بوده و می‌توانند بیماری‌هایی مهلکی را ایجاد نمایند. از جمله این سروتایپ ها می توان به سروتایپ های O78, O1,O2 اشاره نمود که از مهم‌ترین سروتایپ‌های بیماری زا برای مرغ و بوقلمون هستند (۵-۶). عفونت سیستمیک بوسیله‌ی این سویه‌های بیماری‌زا زمانی رخ می‌دهد که تعداد زیادی از این باکتری بتواند خود را از طریق دستگاه تنفس و یا سیستم گوارش به داخل جریان خون برسانند. در این حالت ورود باکتری در خون به سپتی‌سمی و در نهایت مرگ منجر می‌شود و یا اینکه عفونت به غدد سروزی، پری کاردیوم، مفاصل، کلیه و سایر اندام ها کشیده شده و حالت سیستمیک بیماری رخ می‌دهد (۷-۸).

استراتژی‌های درمانی شامل کنترل و نظارت بر روی عوامل زمینه ساز عفونت و همچنین تجویز آنتی‌بیوتیک در مراحل اولیه بیماری است. ولی متأسفانه به علت مصرف بی رویه آنتی‌بیوتیک، سویه های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر تتراسایکلین، کانامایسین، نئومایسین، سفالوتین، استرپتومایسین، انروفلوکساسین، فلورفنیکول، کولیستین، فلومکوئین،اریترومایسین و ... به فراوانی دیده می‌شوند و تعداد زیادی از سویه ها همزمان به چندین آنتی‌بیوتیک مقاومت پیدا کرده‌اند (۹-۱۶). بعلاوه، انتظار می رود در آینده ای نه چندان دور، جهت ارتقاء سلامت جامعه، استفاده از داروهای آنتی بیوتیکی بویژه آنتی بیوتیک های محرک رشد در مرغداری ها ممنوع شود. تا کنون چندین جایگزین برای کنترل این

www.SID.ir

Archive of SID

عفونت در میان پرندگان مورد بررسی قرار گرفته است که به طور خلاصه در ذیل بیان می شود:

الف- خوراندن اسپور باکتری باسیلوس سابتیلیس به جوجه؛ این اسپورها طی یک روند رقابتی منجر به کاهش جمعیت اشرشیاکلی در روده ی جوجه می شوند (۱۷). هر چند این روش در ابتدا پاسخ مثبت می دهد اما با گذشت زمان و دفع اسپورها، اشرشیاکلی دوباره می تواند جایگزین شود بنابراین روش مناسبی برای استفاده ی دائمی در مقیاس تجاری نیست.

ب- استفاده از فاژهای آلوده کننده باکتری *E.coli* برای از بین بردن عامل بیماری زا. استفاد ه از این روش بیشتر در محیط هایی همچون بیمارستانها جهت از بین بردن عامل اسهال نوزادان مورد بحث است، بعلاوه در رابطه با سلامت کامل این روش اختلاف نظر وجود دارد (۱۸).

ج- ساخت واکسن علیه اشرشیاکلی: یکی از موانع توسعه واکسن بر علیه بیماری کلی باسیلوز تعدد سروتایپ های بیماریزای E.coli و عدم حفاظت متقاطع کاراً می باشد. واکسن های اشرشیاکلی شامل واکسن کشته، واکسن تخفیف حدت یافته و واکسن نوترکیب می باشد. تا کنون واکسن های کشته علیه سروتیپ های مختلف باکتری اشرشیاکلی ساخته شده اند، مشکلی که این واکسن ها دارند بهم ریختن دیواره ی باکتری در طی مسیر تولید آنهاست به طوریکه همزمان با پروسه ی غیر فعال کردن باکتری (حرارت، فرمالدئید و...) تعداد زیادی از اپی توپهای موجود در سطح باکتری از بین می رود. واکسن های E.coli که به این طریق ساخته شده اند قادر به ایجاد ایمنی محافظتی کافی علیه بیماری نیستند.

یک واکسن تجاری تخفیف حدت یافته علیه سروتایپ O2 در بوقلمون با موفقیت به کار رفته است (۱۹) ترس از برگشت سویه ی موتانت به سویه ی وحشی همچنان استفاد ه از واکسن های زنده ی ضعیف شده را با تردید مواجه می کند. یک واکسن تجاری زنده مادیفیه شده سروتایپ O78 به نام Poulvac توسط کمپانی فورت داج امریکا (Fort Dodge) با مالکیت فعلی کمپانی ژوتیس امریکا (Zoetis, USA) ساخته شده که علاوه بر حفاظت برعلیه O78 ادعای حفاظت علیه دیگر سروتایپ ها را دارد، به بازار وارد شده است. واکسن‌های دیگری نیز در حال تهیه می باشند که فعلا در مرحله تحقیقات آزمایشگاهی هستند و اکثراً برای جوجه کاربرد چندانی ندارند (20-24). به طور مثال واکسن های نوترکیب ساخته شده در تحریک سیستم ایمنی بدن میزبان بسیار ضعیف عمل می کنند. بنابراین، طراحی واکسن های جدید علیه اشرشیاکلی، به طوری که مشکلات واکسن های پیشین را مرتفع نماید از اهمیت به سزایی برخوردار است.

ساخت واکسن با استفاد ه از شبح باکتری مدتی است که مورد توجه زیادی قرار گرفته است. در این روش، با ایجاد کانالی در دیواره ی باکتری های گرم منفی بواسطه ی بیان ژن E لیز کننده باکتریوفاژ ΦX174، ژنوم و محتوی سیتوپلاسمی باکتری تخلیه می شود. از جمله مزایایی که این روش دارد می توان موارد ذیل را نام برد:

۱. سالم ماندن دیواره ی باکتری و PAMP۱ های آن، در حین انجام تخلیه ی محتوی سیتوپلاسمی و ژنوم (۲۵).

۲. شبح باکتری حاصل با داشتن PAMPها بر روی خود به عنوان یک عامل خارجی شناخته می‌شود و بلافاصله توسط فاگوسیتوز سلول‌های بیگانه خوار از محیط بدن میزبان حذف می‌گردد.

۳. تحریک هر دو بازوی همورال و سلولار سیستم ایمنی (۲۶-۲۷).

Molecular Pattern

www.SID.ir

Archive of SID

۴. داشتن خاصیت ادجوانتی ذاتی و عدم نیاز به استفاده از ادجوانت همراه واکسن (۲۸-۳۰).

۵. عملکرد این واکسن از طریق تجویز خوراکی و موکوزال (عدم نیاز به استفاده از تزریق) (۲۷, ۳۱-۳۲).

۶. پایداری بالای این ذرات، به طوری که بوسیله ی فریز درایر برای سال ها بدون از دست دادن ویژگی های خود پایدار است (۳۳).

۷. هزینه ی نسبتا پایین تولید این گونه واکسن ها در مقیاس تجاری(۳۳).

۸. عدم قابلیت تکثیر در میزبان و به تبع آن فقدان خطر بازگشت قابلیت بیماریزایی و حدت باکتری.

۹. قابلیت تکرار واکسیناسیون بدون ایجاد استرس تزریق

در جهت افزایش ایمنی‌زایی واکسن‌ها، از ترکیبات متنوعی بنام ادجوانت استفاده می شود. این مواد می‌توانند باعث افزایش پاسخ ایمنی هومورال و سلولی علیه آنتی‌ژن اصلی شوند. اگرچه همه‌ی این مواد نمی‌توانند هر دو نوع پاسخ ایمنی را برانگیخته کنند و نوع پاسخ به میزان بالایی وابسته به نوع ادجوانت است. از معروف‌ترین این مواد که در حال حاضر از آن استفاده می‌شود، نمک‌های معدنی قابل‌ذکرند که آلوم شناخته‌شده‌ترین آن‌ها است که بیشتر پاسخ ایمنی وابسته به Th2 که سیستم ایمنی هومورال را درگیر می‌کند، تحریک می‌کند. یکی از زمینه‌های اصلی تحقیقاتی که در حیطه واکسن‌سازی انجام می‌شود جستجوی برای ادجوانت‌های مؤثرتر برای افزایش دادن کارایی واکسن‌ها است. محصولات باکتریایی، عوامل فعال سطحی، سیتوکاین ها، پلیمرها و ترکیبات صناعی از جمله ادجوان های شناخته شده هستند (34) . با این وجود تلاش های زیادی جهت توسعه ادجوانت های جدید در حال انجام است. استفاده از شبح باکتریایی یکی از این تلاش هاست.

شبح باکتریایی اصطلاحی است که برای باکتری‌هایی بکار برده می‌شود که محتوای سیتوپلاسمی آن‌ها به‌طور کامل خارج شده است بدون آنکه دیواره آن‌ها از بین برود و یا حالت نرمال خود را از دست بدهد. نحوه ساخت آن به‌طورکلی از طریق بیان کنترل‌شده ژن لیز کننده E از فاژ ΦX174 است. محصول این ژن، پروتئینی را رمز می‌کند که با نفوذ در غشای باکتری در آن ایجاد کانالی با قطر حداکثر 1μm می‌کند که تمامی محتویات سلولی از طریق این کانال و در اثر فشار اسمزی محیط کشت به بیرون نشت می‌کند. با توجه به اینکه کانال در دیواره باکتری ایجاد می‌شود، تنها می‌توان آن را بروی باکتری‌های گرم منفی ایجاد کرد و انواع گرم مثبت برای این منظور مناسب نیستند. این کانال می‌تواند برای واردکردن مواد خارجی به داخل BG نیز مورداستفاده قرار بگیرد. لذا انتقال کارا ماکرومولکول ها زیستی به سلول نیز یکی

www.SID.ir

Archive of SID

دیگر از کاربردها و محاسن اشباح باکتریایی است

اهمیت سامانه شبح باکتریایی از سالم بودن دیواره باکتری ناشی می‌شود. دیواره باکتری‌ها دارای یکسری از مولکول‌ها بر روی خود است که به آن‌ها Pathogen Associated Molecular Pattern میگویند. این مولکول‌ها مختص سلول‌های باکتریایی هستند و بر روی سلول‌های میزبان دیده نمی‌شوند. در کنار ویژگی ذکرشده، باید به این نکته نیز اشاره‌کرده که با واردکردن آنتی‌ژن خارجی به داخل BG حال یا به‌صورت پروتئین و یا به‌صورت DNA (DNA واکسن) می‌توان پاسخ ایمنی در برابر این قسمت را نیز ایجاد کرد. این موضوع در کنار اینکه BG به‌سرعت توسط سلول‌های بیگانه‌خوار برداشته می‌شود، باعث افزایش ارائه آنتی‌ژن موردنظر به سلول‌های سیستم ایمنی می‌شود(29, 30).

ویژگی منحصربه‌فرد دیگر BG خاصیت ادجوانتی آن است. این ساختار به‌واسطه داشتن PAMP بر روی خود می‌تواند PRRs در سیستم ایمنی که عمداً Toll Like Receptors هستند را تحریک کند. تحریک شدن TLRs ایجاد پاسخ‌های ایمنی ذاتی منجر می‌شود که درنهایت منجر به افزایش پاسخ به آنتی‌ژن می‌شوند. از لیگاندهای TRLs که به‌طورمعمول به‌عنوان ایمونوادجوانت در DNA واکسن‌ها استفاده می‌شوند می‌توان به موتیف‌های CpG اشاره کرد که تحریک‌کننده‌ی قوی TRL9 هستند(34, 29, 37).

ویژگی بسیار مهم بعدی نحوه تجویز BG به‌عنوان واکسن است. این سامانه ایدئال برای تجویز از راه موکوزی و خوراکی است که این نیز ناشی از سالم بودن دیواره آن هست که باعث می‌شود به‌سرعت توسط M-Cells که در سطح اپیتلیوم غشای مخاطی هستند برداشته شود. شکل شماره ۴ نحوه برداشت این ساختارها توسط سلول‌های M در اپیتلیوم مخاطی را نشان می‌دهد. بدیهی است که در پروسه ساخت واکسن، انواع بی‌نیاز از سوزن بسیار موردقبول‌تر هستند(35, 31, 30).
پایداری از دیگر ویژگی‌های مهم BG است. این ساختارها را می‌توان به‌وسیله فریز درایر به‌صورت لیوفیلایز تبدیل کرد و به‌آسانی از نقطه‌ای به نقطه‌ای دیگر منتقل نمود. بعلاوه در این حالت BG برای سال‌ها بدون از دست دادن ویژگی‌های خود، پایدار است(31).

تنوع کارایی BG نیز ویژگی بسیار مهم دیگر آن است. این سامانه را می‌توان از تقریباً تمامی باکتری‌های گرم منفی تولید کرد. بعلاوه این تکنولوژی بسیار برای تولید واکسن‌های ساب یونیت، DNA و آنتی‌ژن‌ها نوظهور است(۳۶).

از لحاظ نحوه تولید در مقیاس صنعتی، BG را می‌توان به سهولت در فرمانتور تولید کرد. همچنین هزینه تولید BG به نسبت سایر واکسن‌ها و تولیدات وابسته به آن‌ها، بسیار پایین‌تر است(31).

www.SID.ir

Archive of SID

از دیگر ویژگی‌هایی که می‌توان از آن به عنوان نقطه قوت BG نام برد، امکان نمایش داده سایر آنتی ژن‌هایی است که بطور معمول مربوط به خود شبح باکتریایی نیست اما با متصل شدن به اجزا دیواره شبح جزئی از ساختار آن شده و می‌توانند همراه با آن منتقل شوند (شکل ۶). این عمل باعث می‌شود که شبح باکتریایی بتواند به عنوان یک ناقل ماکرومولکولهای زیستی عمل کرده و آن‌ها را به سلول‌های هدف برساند.

کمپانی Bird-C که مالکیت مادی و معنوی تکنولوژی شبح باکتریایی را در اختیار دارد در سال ۲۰۰۵ و ۲۰۱۱ توانسته است ۲ واکسن علیه باکتری Toxogenic E.coli را بوسیله ایجاد BG از این باکتری، تولید کند. با یک بار تجویز دهانی و یا مقعدی این واکسن‌ها محافظت کامل نسبت به باکتری E.coli O157:H7 ایجاد شده است (۳۸).

در اولین تحقیق که توسط باسامی و لگزیان انجام شده است در مورد استفاده از امکان ارسال DNA واکسن یونیورسال علیه آنفلوانزای پرندگان با استفاده از سامانه شبح باکتریایی است. در این تحقیق که مقدمه شروع تحقیقات بر روی تکنولوژی شبح باکتریایی در ایران بود ابتدا سازه لیز کننده pmET32 طراحی وساخته شد و سپس با استفاده از آن باکتری *E.coli* پاتوژنیک (O78) و غیر پاتوژنیک (TOP10) تبدیل به شبح گردیدند. در ادامه این تحقیق ابتدا از این اشباح جهت ارسال سازه pEGFP به داخل سلول‌های ماکروفاژ جوجه استفاده شد. این کار به منظور بررسی میزان وارد شدن این اشباح به داخل سلول‌ها و همچنین بیان ترانس ژن موجود در آن‌ها انجام پذیرفت. کارایی وارد شدن این سامانه به داخل سلول‌های ماکروفاژ جوجه بیش از ۹۰٪ بود (بر اساس تعداد سلول‌های +GFP). در نهایت میزان بیان ژن از ژن‌های دخیل در سیستم ایمنی و مؤثر واقع شدن یک واکسن با استفاده از qRT-PCR و وسترن بلات بررسی گردید. بر اساس این نتایج شبح O78 (پاتوژنیک) نسبت به شبح TOP10 (غیر پاتوژنیک) محرک بسیار قوی‌تری برای سیستم ایمنی بود. **(*Bassami et. al*; unpublished data).**

دو تحقیق دیگر بر روی استفاده از شبح باکتری‌های APEC سویه O78 و O2 به عنوان واکسن جدید علیه بیماری کولی باسیلوز صورت گرفت. پس از طراحی و ساخت سازه ژنی باکتری E. coli پاتوژن با وکتور pmTE32a (دارای ژن E تحت کنترل پروموتر λPR و مهار کننده CI) ترانسفورم می گردد (۳۹). رشد باکتری تا فاز لوگاریتمی مورد نظر در ۲۸ درجه ادامه داده می شود(39-41) سپس افزایش دما به ۴۲ درجه جهت القاء بیان ژن لیزکننده E و مانیتورینگ تعداد سلولهای زنده در زمان های مختلف طی ۲۴ ساعت انجام شده، سپس شبح های باکتریایی تولید شده جمع آوری می گردد (40-42). شبح باکتریایی تولید شده با میکروسکوپ الکترونی و کشت باکتریایی به مدت ۴۸ ساعت تایید می گردد (۴۳). در این تحقیقات تأثیر کاربرد واکسن ساخته شده برپایه تکنیک شبح باکتریایی به دو شکل تزریقی و استنشاقی با

www.SID.ir

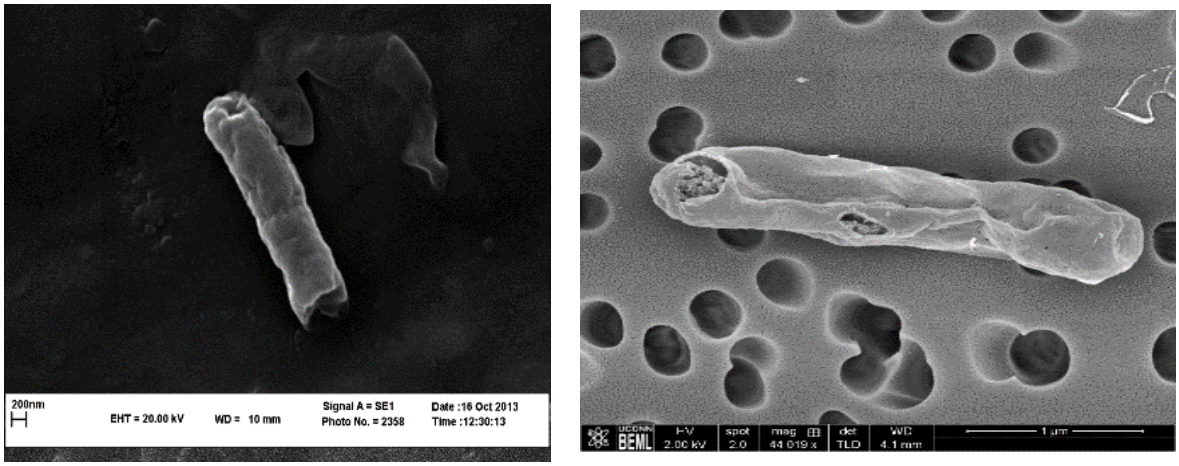
Archive of SID

واکسن کشته و گروه شاهد از نظر ضایعات کالبد گشایی مورد ارزیابی قرار گرفت. در ابتدا تعداد ۸۵ قطعه جوجه یکروزه نژاد رأس ۳۰۸ در ۵ گروه وجایگاه ۱۷ قطعه ای برای هریک از دو سروتایپ *E.coli* o78k80 و *E.coli* o2k1 تقسیم شد که کلیه گروه‌ها تحت واکسیناسیون معمول منطقه و تغذیه با جیره مطابق استاندارد نژاد قرار گرفتند. واکسیناسیون بر ضد بیماری کلی باسیلوز با واکسن کشته و Ghost در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ در گروه‌های مربوطه و مواجهه با سویه وحشی در کلیه گروه‌ها بجز گروه کنترل منفی در روز ۳۰ انجام شد. سپس نمونه برداری کالبدگشایی وضایعات لاشه در روزهای ۲۶ و ۳۵ در تمام گروه‌ها انجام گردید. در نمونه برداری روز ۲۶ (قبل از مواجهه) هیچ گونه ضایعاتی و تفاوتی در نمونه‌ها مشاهده نشد اما در نمونه برداری روز ۳۵ (پس از مواجهه با سویه وحشی) ضایعات مختلف کالبد گشایی با درجات متفاوت مشاهده شد. نتایج حاصله از این دو تحقیق نشان داد که واکسن های شبح باکتریایی بر علیه سروتیپ های پاتوژن 078 و 02 به صورت معنی داری ضایعات بیماری کلی باسیلوز را کاهش می دهند (***Bassami et. Al*** ;unpublished data). به‌منظور خلاصه کردن مراحل ساخت و سهولت دنبال کردن روند این مرحله در فلوچارت ۱ ارائه‌شده است. دو میکروگراف میکروسکوپ الکترونی ۱ و ۲ شبح باکتریایی تولید شده را نشان می دهد.

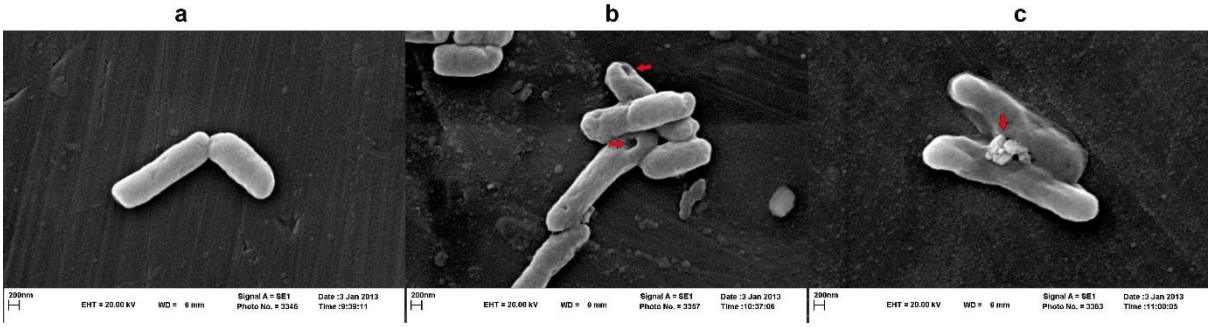
فلوچارت 1- مراحل ساخت شبح APEC

www.SID.ir

Archive of SID



شکل1 میکروگراف میکروسکوپ الکترونی (SEM- از شبح باکتریایی. ***Bassami et. al*; unpublished data(**



شکل2. نمونه‌های تست هستندc و b نمونه کنترل و a- میکروگراف میکروسکوپ الکترونی از اشباح تولید شده (Bassami et. al; unpublished data.)

References:

1. Matsuda K, Chaudhari AA, Lee JH. Avian colibacillosis caused by an intestinal pathogenic Escherichia coli isolate from calf diarrhea. Res Vet Sci. ۲۰۱۰; ۸۹(۲):.۱۵۲-۱۵۰
2. Lutful Kabir SM. Avian colibacillosis and salmonellosis: a closer look at epidemiology, pathogenesis, diagnosis, control and public health concerns. Int J Environ Res Public Health. ۲۰۱۰; ۷(۱):.۱۱۴-۸۹
3. Dubreuil JD. Escherichia coli STb toxin and colibacillosis: knowing is half the battle. FEMS Microbiol Lett. ۲۰۰۸; ۲۷۸(۲):.۱۴۵-۱۳۷

www.SID.ir

Archive of SID

4. Ask B, van der Waaij EH, van Eck JH, van Arendonk JA, Stegeman JA. Defining susceptibility of broiler chicks to colibacillosis. Avian Pathol. ۲۰۰۶; ۳۵(۲):.۱۵۳-۱۴۷
5. Someya A, Otsuki K, Murase T. Characterization of Escherichia coli strains obtained from layer chickens affected with colibacillosis in a commercial egg-producing farm. J Vet Med Sci. ۲۰۰۷; ۶۹(۱۰):.۱۰۱۴-۱۰۰۹
6. Kawano M, Yaguchi K, Osawa R. Genotypic analyses of Escherichia coli isolated from chickens with colibacillosis and apparently healthy chickens in Japan. Microbiol Immunol. ۲۰۰۶; ۵۰(۱۲):.۹۶۶-۹۶۱
7. Vandekerchove D, Vandemaele F, Adriaensen C, Zaleska M, Hernalsteens JP, De Baets L, Butaye P, Van Immerseel F, Wattiau P, Laevens H, Mast J, Goddeeris B, Pasmans F. Virulence-associated traits in avian Escherichia coli: comparison between isolates from colibacillosis-affected and clinically healthy layer flocks. Vet Microbiol. ۲۰۰۵; ۱۰۸(۲-۱):.۸۷-۷۵
8. Arenas A, Vicente S, Luque I, Gomez-Villamandos JC, Astorga R, Maldonado A, Tarradas C . Outbreak of septicaemic colibacillosis in Japanese quail (Coturnix coturnix japonica). Zentralbl Veterinarmed B. ۱۹۹۹; ۴۶(۶):.۴۰۴-۳۹۹
9. Dheilly A, Le Devendec L, Mourand G, Bouder A, Jouy E, Kempf I. Resistance gene transfer during treatments for experimental avian colibacillosis. Antimicrob Agents Chemother. ۲۰۱۲; ۵۶(۱):.۱۹۶-۱۸۹
10. Jayappa H, Davis R, Dierks L, Sweeney D, Wasmoen T. Demonstration of passive protection in neonatal calves against colibacillosis following immunization of pregnant heifers at ۳months of gestation. Vet Ther. ۲۰۰۸; ۹(۴):.۲۸۹-۲۸۳
11. Huff WE, Huff GR, Rath NC, Balog JM, Donoghue AM. Alternatives to antibiotics: utilization of bacteriophage to treat colibacillosis and prevent foodborne pathogens. Poult Sci. ۲۰۰۵; ۸۴(۴):.۶۵۹-۶۵۵
12. Huff WE, Huff GR, Rath NC, Balog JM, Donoghue AM. Therapeutic efficacy of bacteriophage and Baytril (enrofloxacin) individually and in combination to treat colibacillosis in broilers. Poult Sci. ۲۰۰۴; ۸۳(۱۲):.۱۹۴۷-۱۹۴۴
13. Karg G, Bilkei G. The effect of season and vaccination for Glasser's disease and post-weaning Colibacillosis in an outdoor pig unit endemically infected with virulent strain of Haemophilus Parasuis serotype ۵and pathogenic Escherichia coli. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. ۲۰۰۲; ۴۹(۱۰):.۴۶۸-۴۶۴
14. Marrett LE, Robb EJ, Frank RK. Efficacy of neomycin sulfate water medication on the control of mortality associated with colibacillosis in growing turkeys. Poult Sci. ۲۰۰۰; ۷۹(۱):.۱۷-۱۲
15. Hampson DJ, Buddle JR, Melrose GJ. Evaluation of a novel antimicrobial polymer for the control of porcine postweaning colibacillosis. Aust Vet J. ۲۰۰۰; ۷۸(۲):.۱۲۰-۱۱۷
16. Amara A, Ziani Z, Bouzoubaa K. Antibioresistance of Escherichia coli strains isolated in Morocco from chickens with colibacillosis. Vet Microbiol. ۱۹۹۵; ۴۳(۴):.۳۳۰-۳۲۵
17. Roberto M. La Ragionea b, Gabriella Casulab,, Simon M. Cuttingb MJW. Bacillus subtilis spores competitively exclude Escherichia coli O۷۸:K ۸۰in poultry. Veterinary Microbiology. ۲۰۰۱; ۷۹(.۱۴۲-۱۳۳
18. Brüssow H, . Phage therapy: the Escherichia coli experience Microbiology. ۲۰۰۵; ۱۵۱(7) -۲۱۳۳ .۲۱۴۰
19. Kwaga JK, Allan BJ, van der Hurk JV, Seida H, Potter AA. A carAB mutant of avian pathogenic Escherichia coli serogroup O ۲is attenuated and effective as a live oral vaccine against colibacillosis in turkeys. Infect Immun. ۱۹۹۴; ۶۲(۹):.۳۷۷۲-۳۷۶۶

www.SID.ir

Archive of SID

20. Melamed D, Leitner G, Heller ED. A vaccine against avian colibacillosis based on ultrasonic inactivation of Escherichia coli. Avian Dis. ۱۹۹۱; ۳۵(۱):.۲۲-۱۷
21. Francis DH, Willgohs JA. Evaluation of a live avirulent Escherichia coli vaccine for K۸۸+, LT+ enterotoxigenic colibacillosis in weaned pigs. Am J Vet Res. ۱۹۹۱; ۵۲(۷):.۱۰۵۵-۱۰۵۱
22. Jayappa HG, Goodnow RA, Geary SJ. Role of Escherichia coli type ۱pilus in colonization of porcine ileum and its protective nature as a vaccine antigen in controlling colibacillosis. Infect Immun. ۱۹۸۵; ۴۸(۲):.۳۵۴-۳۵۰
23. Nagy LK, Walker PD, Bhogal BS, Mackenzie T. Evaluation of Escherichia coli vaccines against experimental enteric colibacillosis. Res Vet Sci. ۱۹۷۸; ۲۴(۱):.۴۵-۳۹
24. Parnas J, Dam A, Jorgensen JB. "R"-living vaccine against colibacillosis. Communication I. Zentralbl Bakteriol Orig A. ۱۹۷۷; ۲۳۷(۴):.۵۰۳-۴۹۴
25. Eva M Riedmann JMK, Allan W Cripps and Werner Lubitz .Bacterial ghosts as adjuvant particles. Vaccine. ۲۰۰۷; ۶(۲):۲۴۱–.۲۵۳
26. Felnerova D, Kudela P, Bizik J, Haslberger A, Hensel A, Saalmuller A, Lubitz W. T cell-specific immune response induced by bacterial ghosts. Med Sci Monit. ۲۰۰۴; ۱۰(۱۰):BR.۳۷۰-۳۶۲
27. Haslberger AG, Kohl G, Felnerova D, Mayr UB, Furst-Ladani S, Lubitz W. Activation, stimulation and uptake of bacterial ghosts in antigen presenting cells. J Biotechnol. ۲۰۰۰; ۸۳(۲-۱):.۶۶-۵۷
28. Lubitz P, Mayr UB, Lubitz W. Applications of bacterial ghosts in biomedicine. Adv Exp Med Biol. ۲۰۰۹; ۶۵۵(.۱۷۰-۱۵۹
29. Riedmann EM, Kyd JM, Cripps AW, Lubitz W. Bacterial ghosts as adjuvant particles. Expert Rev Vaccines. ۲۰۰۷; ۶(۲):.۲۵۳-۲۴۱
30. Paukner S, Stiedl T, Kudela P, Bizik J, Al Laham F, Lubitz W. Bacterial ghosts as a novel advanced targeting system for drug and DNA delivery. Expert Opin Drug Deliv. ۲۰۰۶; ۳(۱):.۲۲-۱۱
31. Jalava K, Eko FO, Riedmann E, Lubitz W. Bacterial ghosts as carrier and targeting systems for mucosal antigen delivery. Expert Rev Vaccines. ۲۰۰۳; ۲(۱):.۵۱-۴۵
32. Jalava K, Hensel A, Szostak M, Resch S, Lubitz W. Bacterial ghosts as vaccine candidates for veterinary applications. J Control Release. ۲۰۰۲; ۸۵(۳-۱):.۲۵-۱۷
33. Mayr UB, Walcher P, Azimpour C, Riedmann E, Haller C, Lubitz W .Bacterial ghosts as antigen delivery vehicles. Adv Drug Deliv Rev. ۲۰۰۵; ۵۷(۹):.۱۳۹۱-۱۳۸۱
34. Dey AK, Srivastava IK. Novel adjuvants and delivery systems for enhancing immune responses induced by immunogens. Expert review of vaccines. 2011;10(2):227-51.
35. Haslberger AG, Kohl G, Felnerova D, Mayr UB, Furst-Ladani S, Lubitz W. Activation, stimulation and uptake of bacterial ghosts in antigen presenting cells. Journal of biotechnology. 2000;83(1-2):57-66.
36. Ebensen T, Paukner S, Link C, Kudela P, de Domenico C, Lubitz W, et al. Bacterial ghosts are an efficient delivery system for DNA vaccines. J Immunol. 2004;172(11):6858-65.
37. Paukner S, Kudela P, Kohl G, Schlapp T, Friedrichs S, Lubitz W. DNA-loaded bacterial ghosts efficiently mediate reporter gene transfer and expression in macrophages. Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy. 2005;11(2):215-23
38. Mayr UB, Kudela P, Atrasheuskaya A, Bukin E, Ignatyev G, Lubitz W. Rectal single dose immunization of mice with Escherichia coli O۱۵۷:H ۷bacterial ghosts induces efficient humoral and cellular immune responses and protects against the lethal heterologous challenge. Microb Biotechnol. ;۲۰۱۱
39. Werner Lubitz VA. PROCESS FOR THE PRODUCTION OF VACCINES AND THEIR USE)United States Patent). ۱۹۹۵; Patent No :.US ۶،۱۷۷،۰۸۳Bl)

www.SID.ir

Archive of SID

40. Jechlinger W HC, Resch S, Hofmann A, Szostak MP, Lubitz W. Comparative immunogenicity of the hepatitis B virus core ۱۴۹antigen displayed on the inner and outer membrane of bacterial ghosts .Vaccine. ۲۰۰۵; ۲۳(۳۶۰۹_ .۳۶۱۷

41. Tu FP CW, Zhuang XY, Lu CP. Effect of oral immunization with Aeromonas hydrophila ghosts on protection against experimental fish infection. Lett Appl Microbiol. ۲۰۱۰; ۵۰):.۱۷-۱۳

42. Chakameh Azimpour Tabrizi PW, Ulrike Beate Mayr, ThomasStiedl, MatthiasBinder, JohnMcGrath and WernerLubitz. Bacterial ghosts – biological particles as delivery systems for antigens, nucleic acids and drugs. Current Opinion in Biotechnology. ۲۰۰۴; ۱۵):.۵۳۷-۵۳۰

43. A. Witte GW, U . B l ۷si ,G. Halfmann, M. Szostak, W. Lubitz,. Endogenous transmembrane tunnel formation mediated by PhiX ۱۷۴lysis protein E,. Bacteriology. ۱۹۹۰; ۱۷۲): ۴۱۰۹_ .۴۱۱۴

www.SID.ir

Surf and download all data from SID.ir: www.SID.ir

Translate via STRS.ir: www.STRS.ir

Follow our scientific posts via our Blog: www.sid.ir/blog

Use our educational service (Courses, Workshops, Videos and etc.) via Workshop: www.sid.ir/workshop