

INTERFERENCE THE MATERNALLY DERIVED ANTIBODY AND THE COMMERCIAL BURSAL LIVE VACCINES AT BROILER CHICKENS

MAAMON AL AMIR and ANOUAR. ALOMAR

ABSTRACT

Received at: 31/3/2013

Accepted: 12/5/2013

This work aims to studying the effects of maternal derived antibodies against the live vaccines of infectious bursal disease for the chicks, and serological estimation for interference between the maternal derived antibodies and the Gomboro live vaccines which are given in the early age, as well as achieving the best vaccination program to control the disease. Group of chicks were taken from elderly parents and this was divided into five groups 24 one day old chicks/group. One of these groups was raised as a negative control, and the other four groups were given various Gomboro live vaccination (hot and intermediate vaccines) at different ages. The levels of antibodies were examined weekly, which was produced from the weekly vaccinated birds, were examined. The high levels of maternal derived antibodies have affected the given vaccines, and they interfere with the maternal derived antibodies when using the live Gomboro vaccines.

Key words: Maternal antibody, live vaccines, broiler chickens

التداخل بين المناعة الأمية واللقاحات الحية التجارية لمرض الجمبورو عند صيصان الفروج

مامون الأمير ، أنور العمر

طالب دراسات عليا- ملجستير في قسم الأحياء الدقيقة في كلية الطب البيطري بجامعة البعث- سوريا .
استاذ مساعد في علم الفيروسات في قسم الأحياء الدقيقة في كلية الطب البيطري بجامعة البعث- سوريا.

تهدف هذه الدراسة إلى دراسة تأثير المناعة الأمية على اللقاحات الحية التجارية لمرض الجمبورو عند الصيصان الناتجة عن أمات كبيرة السن، وتقييم مصلي للتداخلات بين المناعة الأمية ولقاحات الجمبورو المعطاة بعمر مبكر، وإعطاء لقاحات الجمبورو بأعمار مختلفة بهدف الوصول إلى برنامج التحصين الأمثل للسيطرة على المرض.

أجريت الدراسة على مجموعة من صيصان أخذت من أمات متقدمة في السن وقسمت إلى خمس مجموعات كل مجموعة تتألف من 24 صوص بعمر يوم واحد أقيمت مجموعة واحدة كشاهد سلبي. المجموعات المتبقية أعطيت لقاحات جمبورو مختلفة الضراوة وبأعمار مختلفة، وتمت معايرة مستويات الأضداد النوعية الناتجة عن إعطاء اللقاح وذلك اسبوعياً. وقد وجد أن المستويات المرتفعة من الأضداد الأمية قادرة على التأثير على اللقاح المعطى وأنه عند استخدام لقاح الجمبورو بشكل مبكر فإنها تتداخل مع المناعة الأمية وتضعف الاستجابة المناعية ضدها حيث ان التحصين في اليوم الرابع عشر قد أعطى أفضل استجابة مناعية عند الطيور وبالمقارنة بين اللقاح المتوسط والمقوى وجد أن اللقاح المقوى حفز على تشكيل مستويات مرتفعة من المناعة أكثر من الأول إلا أنه قد يؤدي لتدمير أشد في أنسجة الجراب.

المقدمة

INTRODUCTION

اكتشف مرض التهاب الجراب المعدي أو مرض الجمبورو لأول مرة عام 1962 (Cosgrove, 1962) ، ونظراً لكون المرض قد اكتشف في منطقة جمبورو Gumboro في الولايات المتحدة الأمريكية فإن تسمية (جمبورو) قد ارتبطت بالمرض ولا زالت تستخدم حتى الآن (Lukert and saif, 1997). وقد سجلت إصابات بالمرض في العديد من دول العالم (Faragher, 1972).

في الجمهورية العربية السورية فقد شُخص فيها مرض الجمبورو لأول مرة عام 1962 (عبد العزيز ، 1962)، حيث انتشر في القطر مسبباً خسائر اقتصادية كبيرة (Hubbo et al., 2008).

في المؤتمر العام الثالث والستين للمنظمة العالمية للأوبئة OIE، الذي عقد في باريس عام 1995 اعتبر مرض الجمبورو مرضاً اقتصادياً مهماً على المستوى العالمي، حيث انتشر في أكثر من 90% من الدول الأعضاء، وما يزيد على 80% من هذه الدول حدث فيها المرض بالشكل الحاد (Etteradossi, 1995).

ينتمي العامل المسبب لمرض الجمبورو إلى عائلة بيرنا Birnaviridae (Carter et al., 2005)، وهي تضم ثلاثة أجناس رئيسة، واحد منها فقط يصيب الطيور ويدعى Avibirnavirus، وهو بدوره يضم نوعاً واحداً فقط (Brown, 1986; Chettle et al., 1989; Practica et al., 2006 ; Pedro et al., 2008).

وهو من الفيروسات العاربية، ذو انتظام عشاري الوجوه، يتراوح قطره ما بين ٦٥.٥٥ نانومتر (Hirai and Shimakura, 1974)، يحتوي على الحمض النووي الريبي RNA مضاعف السلسلة (Pedro *et al.*, 2008)، يتألف المجين الفيروسي (genome) من قطعتين (A-B) حيث القطعة (A) تُشفر أربعة بروتينات فيروسية (VP5 - VP4 - VP3 - VP2)، والقطعة (B) تُشفر البروتين الفيروسي (VPI). ولفيروس مرض التهاب الجراب المعدي نمطين مصليين هما النمط المصلي 1 والنمط المصلي 2 (Jack wood *et al.*, 1984; McFerran *et al.*, 1980)، إذ يصيب النمط المصلي الأول الدجاج القتي (OIE, 2008)، وتم الكشف عن الأضداد النوعية للنمط المصلي الأول في أنواع الطيور الأخرى مع عدم ظهور أعراض المرض عليها، وتستخدم لقاحات مرض التهاب الجراب المعدي ضد النمط المصلي الأول (Dormitorio *et al.*, 2007). النمط المصلي الأول Serotype 1، يصيب الدجاج ويسبب تثبيطاً للجهاز المناعي فيها، ويضم ثلاث عترات (Patricia *et al.*, 2006):

أ- العترات الكلاسيكية Classic IBDV Strain: وتنتمي إليها العترة الكلاسيكية الضارية Virulent Classic IBDV التي تنتشر في أنحاء مختلفة العالم (Lojkic *et al.*, 2008 ; OIE, 2008).

ب- العترة شديدة الضراوة Very Virulent IBDV Strain
ج- العترة المتغيرة Variant IBDV Strain

أما النمط المصلي الثاني Serotype 2 فيُعد مسبباً للمرض في الدجاج الرومي (Ismail *et al.*, 1988)، وهو غير ممرض للدجاج، حيث لوحظ وجود أعداد نوعية للنمط المصلي الثاني في الدجاج والبط دون ظهور أية أعراض مرضية عليها (McFeran *et al.*, 1980; Lasher, 1994). إذ يُمكن التفريق بين هذين النمطين المصليين باستخدام اختبار التعادل الفيروسي (Neutralization Test Virus).

ينتقل المرض بالتلامس المباشر بين الطيور، وعن طريق الأدوات والمواد الملوثة والأشخاص والهواء وغيرها، إلا أنه لا ينتقل من الأمات إلى الصيصان بشكل عمودي، ويُطرح الفيروس بعد ٢٤ ساعة من العدوى، أما فترة الحضانة فتتراوح ما بين ٢-٤ أيام.

يحافظ الفيروس على حيويته عند درجة الحرارة ٥٦ م° لمدة خمس ساعات على الأقل، وعند درجة الحرارة ٦٠ م° لمدة ٣٠ دقيقة. كما أنه يقاوم الفينول ٠.٥%، ولا يتأثر بالاشعير والكلوروفورم ودرجة الباهاء عند pH=2، إلا أنه يتأثر عند pH=12 وتتنخفض فعالية الفيروس بشكل واضح عند معاملته بالفورمالين ٥% لمدة ٦ ساعات (Benton *et al.*, 1967; Rosenberger *et al.*, 1989).

يُعد الجراب الهدف الرئيس للفيروس Target Organ والذي يعتبر أحد الأعضاء للمفاوية الأولية Primary lymphoid organ حيث يحدث فيه نضج وتمايز للخلايا للمفاوية البائية B، والتي هي مصدر إنتاج الجلوبيولينات المناعية وما يتعلق بالمناعة الخلطية، (Tanimura and Sharma, 1997).

جرباب فابريشوس هو العضو للمفاوي الوحيد المختص بتمايز وانقسام الخلايا للمفاوية B وهو الجزء المستهدف لفيروسات IBDV (Dohms *et al.*, 1988; Sivandan and Maheswaran, 1980; Rodenberg *et al.*, 1994).

إن خمج الطيور بعمر يوم واحد بـ IBDV يؤدي إلى اختفاء IgG من المصل بشكل كامل ولكنه يزداد في الأسبوع الأول للخمج بينما تنخفض مستويات IgM معنوياً للخمج وبغض النظر عن وقت الخمج (Hirai *et al.*, 1974).

إن التثبيط المناعي الناتج عن الإصابة بـ IBD يكون مسؤولاً عن مضاعفات الإصابة بأخماج حقلية أخرى (Dohms and Saif, 1984).

يتم السيطرة على المرض عن طريق تطبيق إجراءات التحصين الحيوي وتأمين مناعة كافية عند الطيور وهناك طريقتان رئيسيتان للحصول على مناعة جيدة عند الطيور هما التمنيع الفاعل (Active immunization) والتمنيع المنفل (Passive immunization) (Tizard, 2004).

يوجد نوعان من هذه اللقاحات هما الأكثر توفراً للسيطرة على المرض وهي إما لقاحات حية مضعفة Live attenuated vaccine أو لقاحات خاملة Oil-emulation adjuvante vaccine (OIE, 2008; Thornton and Pattison *et al.*, 1975).

تحضر اللقاحات الحية من عترات حقلية للفيروس مضعفة على المزارع الخلوية أو على أجنة بيض الدجاج وتختلف هذه اللقاحات فيما بينها تبعاً لضراوتها (لدرجة إضعاف العترة الحقلية) فيمكن أن تكون اللقاحات ضعيفة Mild Vaccines، أو لقاحات متوسطة Intermediate Vaccines، أو لقاحات مقواة Hot or Intermediate plus Vaccines (OIE, 2008).

يتم اكتساب الأضداد الأمية (maternal derived antibodies) MDA بعبور IgG من مصل دم الفرخة إلى الأجنة (brambell, 1970) ويتراوح نصف حياة الأضداد النوعية لفيروس الجمبرو ما بين ٣-٥ أيام في الصيصان وقد تبين أن MDA قادرة على معاملة IBDV (wyeth and Cullen, 1976) ولذلك فإنه يجب التأكد من أن مستوى MDA مرتفع بشكل كافي لتأمين حماية من الإصابة بـ IBD (Numoya *et al.*, 1992) خصوصاً خلال الأسابيع ٢-٣ الأولى من العمر قبل التحصين للـ IBD وإلا التحصين المبكر يمكن أن يوصى به.

إن التحصين في اليوم الأول لصيصان لديها مستوى منخفض أو ليس لديها MDA باستخدام عترات لقاحات مضعفة متوسطة أو مقواة للـ IBD يشكل خطراً كبيراً كونه يؤدي لتثبيط مناعي شديد نتيجة التدمير الشديد للجراب، وعلى عكس ما سبق إن عدم قدرة فيروس اللقاح على معاملة MDA بشكل كامل يؤدي إلى فشل في تكاثر الفيروس في جراب فابريشوس وهذا يؤدي إلى عدم القدرة على تشكيل أضداد نوعية (Hair-Bejo *et al.*, 2004)

إن وقت التحصين، ونوع اللقاح، والأضداد الأمية عند الصيصان، وتحدي وإمراضية الـ IBDV الحقلية هي عوامل مهم لتحديد فعالية (نجاعة) التحصين للـ IBD. (Hair-Bejo *et al.*, 2004)

الأهداف OBJECTIVES

- 1- دراسة تأثير المناعة الأمية على اللقاحات الحية التجارية لمرض الجمبورو عند الكتاكيت الناتجة عن أمهات كبيرة السن.
- 2- تقييم مصلي للتدخلات بين المناعة الأمية ولقاحات الجمبورو المعطاة بعمر مبكر.
- 3- إعطاء لقاحات الجمبورو بأعمار مختلفة بهدف الوصول إلى برنامج التحصين الأمثل للسيطرة على المرض.

مواد وطرائق البحث MATERIALS and METHODS

مواد البحث:

- الطيور Birds:

تم الحصول على صيصان بعمر يوم واحد من سلالة (Ross) التجارية مكونة من ٢٠ صوص ناتجة عن أمات في فترة متأخرة من إنتاج البيض (كبيرة العمر)، وكان عمر الأمات عند إدخال البيض- الذي نتجت عنه صيصان التجربة - إلى أجهزة التحضين (٥٥ أسبوع).

تمت تربيتها لمدة ٤٢ يوم في مجموعات منفصلة، مع مراعاة شروط التربية الصحية والحزم بتطبيق إجراءات الامن الحيوي، وتمت تغذيتها على أعلاف تجارية دون إعطاء أي معالجات دوائية بالصادات الحيوية ودون إعطاء أي فيتامينات.

- اللقاحات Vaccines:

استخدمت لقاحات حية متوسطة intermediate vaccines ولقاحات مقواة Intermediate plus vaccines كما يلي:

- لقاح الجمبورو الحي (CEVAC IBDL) عترة Winterfield 2512 G-61 . /متوسط/

- لقاح الجمبورو الحي (Cevac GUMBOL) عترة LIBDV . /مقواة/

مع التنويه إلى أن كل المجموعات لم تحصن بأي لقاح ضد أي مرض آخر عدا لقاح الجمبورو حسب النوع والموعد المحدد في التجربة.

الطرق Methods

كان عدد عند بداية التجربة 120 صوص في اليوم الأول من العمر (والتي أخذت من أمهات كبيرة في العمر) قسمت إلى خمس مجموعات (٢٤ صوص لكل مجموعة) هي G, H, J, K, L أقيمت المجموعة L كشاهد سلبي .

وكانت مواعيد التحصين في جميع المجموعات كما هو موضح في الجداول رقم ١ :

الجدول رقم ١: يوضح موعد التحصين ونوع اللقاح المستخدم

العمر	نوع اللقاح	المجموعة
٧ أيام	متوسط Intermediate	G
١٤ يوم	مقوى Intermediate plus	H
٢١ يوم	متوسط Intermediate	J
٢١ يوم	مقوى Intermediate plus	K
-	شاهد سلبي	L

- العينات Samples:

عينات الدم Blood Samples:

جمعت ١٠ عينات دم على الأقل عن طريق الوريد الوداجي للطيور من كل مجموعة اعتباراً من اليوم الأول ومن ثم كل ٧ أيام وذلك في الأعمار التالية: ١، ٧، ١٤، ٢١، ٢٨، ٣٥، ٤٢ يوم.

وذلك لتتبع مستويات المناعة الأمية والمناعة المشكلة نتيجة إعطاء اللقاح.

وضعت عينات الدم في أنابيب معقمة بشكل مائل على سطح مستوي لتسريع عملية تجلط الدم والمساعدة في انفصال المصل ثم تم تقطير العينات بسرعة ٢٠٠٠ د/د لمدة ١٠ دقائق.

حفظت عينات المصل بعد توزيعها إلى أحجام صغيرة بدرجة حرارة -٢٠ درجة مئوية لتتم معايرة الأجسام المناعية المضادة لاحقاً.

طريقة التحصين Vaccination:

أعطى اللقاح عن طريق التقطير بالأنف حيث تمت إذابة محتويات عبوة اللقاح بالمذيب الخاص به وذلك حسب تعليمات الشركة المصنعة.

:Laboratory Techniques المختبرات المخبرية

:Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay المقايسة المناعية بالأنزيم المرتبط غير المباشرة
استخدم اختبار الإليزا غير المباشرة للكشف عن مستوى الأضداد الموجودة في مصل دم الطيور (Marquardt *et al.*, 1980; Rosenberger, 1989; OIE, 2008) وذلك باستخدام مجموعتان تشخيصيتان من شركة IDEXX الأمريكية (Serial No.:09260-EE206).

وتتألف المجموعة التشخيصية الواحدة لاختبار الإليزا غير المباشرة من:

- أطباق مطلية من الداخل بمستعد ال-IBD antigen coated microtiter plate/ IBD
- الشاهد الإيجابي (Diluted chicken Anti-IBD preserved with sodiumazid) (IBD positive control)
- الشاهد السلبي Negative controle
- محلول الاقتران المرتبط بالأنزيم (Goat) Anti-Chicken :Horseradish Peroxidase Conjugate
- محلول التمديد Dilution Buffer محلول ركيزة الأنزيم TMB Substrate
- محلول إيقاف التفاعل Stop Solution

المواد الأخرى المستخدمة في الاختبار:

- ماصات دقيقة Precision pipets - ماصة دقيقة متعددة الرؤوس delivery pipetting device - رؤوس ماصات استخدام مرة واحدة disposable pipette tips
- جهاز قارئ الإليزا للطبق ذو ٩٦ حفرة 96-well plate reader نوع (BIO-TEK INSTRUMENT, INC) و (Serial No. 186696)
- أنابيب لتخفيف العينات Tubes for diluting samples
- ماء منزوع الشوارد لإجراء عملية غسل الحفر.
- مؤقت زمني Lab times
- بيشر ١٠٠ مل ملي بالماء المقطر لتحرير الماصات Graduated cylinder 100ml
- كمبيوتر مع برنامج IDEXX(version xChex3.3) لتحويل قراءة الكثافة البصرية إلى معيار الأضداد Computer with IDEXX Software program

: Preparation serum samples تحضير عينات المصل للاختبار

تم تمديد العينات بنسبة (١/٥٠٠) حيث تم مزج عينة المصل جيدا وأخذ منه ١ ميكروليتر وأضيف إليه ٥٠٠ ميكروليتر من محلول التمديد Dilution Buffer ومزجت جيدا قبل توزيعها على أطباق الإليزا.

طريقة العمل:

- ١- وضعت ١٠٠ ميكرو ليتر من الشاهد السليبي غير الممدد في كل من الحفر A1 و A2.
- ٢- أضيف ١٠٠ ميكرو ليتر من الشاهد الإيجابي غير الممدد في كل من الحفر A3 و A4.
- ٣- أضيف ١٠٠ ميكرو ليتر من عينات المصل التي تم تمديدها إلى الحفر المخصصة لها.
- ٤- حضن الطبق لمدة ٣٠ دقيقة بدرجة حرارة الغرفة.
- ٥- تم التخلص من محتويات الحفر وغسلت محتويات الحفر بمقدار ٣٠٠ ميكرو ليتر من الماء المقطر لكل حفرة وكررت العملية ثلاث مرات.
- ٦- وزعت ١٠٠ ميكرو ليتر من Conjugate لكل الحفر بما فيها حفر الشاهد الإيجابي و السلبي.
- ٧- كررت الخطوات ٤ و ٥ مرة أخرى.
- ٨- وزعت ١٠٠ ميكرو ليتر من محلول الركيزة TMB Substrate لجميع الحفر.
- ٩- حضن الطبق بدرجة حرارة الغرفة لمدة ١٥ دقيقة ابتداءً من لحظة إضافة ال-Substrate إلى الصف الأول للطبق.
- ١٠- أضيفت ١٠٠ ميكرو ليتر من محلول إيقاف التفاعل Stop Solution إلى كل الحفر.
- ١١- تمت معايرة جهاز قارئ أطباق الإليزا (BIO-TEK) بواسطة الهواء Blank reader with air.
- ١٢- قراءة النتائج على موجة طولها ٦٥٠ نانومتر (650 nm).

تقييم النتائج:

يعطي اختبار ELISA لون تتناسب شدته مع معيار الأضداد النوعية لل-IBD والموجودة في عينة المصل المختبرة، ويعبر عن ذلك بقياس شدة اللون بواسطة جهاز قارئ الأطباق (Micro plate reader) ويعبر عن ذلك بوحدة الكثافة البصرية Optical Density (O.D) ليتم إدخالها إلى الحاسب حيث يقارن الحاسب O.D العينة المختبرة مع (الفرق بين O.D الشاهد الإيجابي و O.D الشاهد السلبي). هذه المقارنة يعبر عنها بتناسب العينة المختبرة إلى الشاهد الإيجابي (S/P) Sample to positive ratio .

وحتى تكون نتائج العمل صحيحة يجب أن يكون الفرق بين متوسط الشاهد الإيجابي و متوسط الشاهد السلبي (PC) \bar{X}_{NC} أكبر من (0.057)، وأن يكون متوسط امتصاصية الشاهد السلبي أقل من (0.150).

وعندما تكون قيمة التناسب S/P للعينة المختبرة أقل أو يساوي (0.20) تعتبر العينة سلبية، وعندما تكون قيمة تناسب S/P للعينة المختبرة أكبر من (0.20) (معايير الأضداد أكبر من ٣٩٦) تعتبر العينة إيجابية وتشير للتحصين أو تعرض القطيع للعدوى بمرض ال-IBD. تم حساب معايير الأضداد بواسطة الحاسوب وفق طريقة: (Synder and Marquardt, 1989; De Herdt *et al.*, 2000).

Negative control mean (\bar{X}_{NC})

$$\frac{\text{Well A1 A(650)} + \text{Well A2 A(650)}}{2} = \bar{X}_{NC}$$

Positive control mean (\bar{x}_{PC})

$$\frac{\text{Well A3 A(650)} + \text{Well A4 A(650)}}{2} = \bar{x}_{PC}$$

$$S/p \text{ ratio} \quad S/p = \frac{\text{Sample Mean} - NC\bar{x}}{PC\bar{x} - NC\bar{x}}$$

Titer – relates S/p at a 1:500 dilution to an endpoint titer :

$$\log_{10} \text{Titer} = 1.09(\log_{10} S/p) + 3.36$$

التحليل الإحصائي Statistical analysis

اجري التحليل الإحصائي للنتائج على برنامج Statistix 1998 وباستخدام تحليل التباين لمعيار واحد وهو One Way ANOVA وذلك للتقصي عن وجود فروق معنوية في قيم المتوسطات الحسابية لمعايير الأضداد.

النتائج RESULTS

كانت معايير الأضداد للمجموعات كما هو موضح في الجدول رقم (٢).
جدول رقم ٢: يوضح نتائج معايير الأضداد للمجموعات خلال التجربة

ELISA titer (Mean±SD)					العمر بالأيام
المجموعة L	المجموعة K	المجموعة J	المجموعة H	المجموعة G	
5064.25± 1505.81	5064.25± 1505.81	5064.25± 1505.81	5064.25± 1505.81	5064.25± 1505.81	١
1189.7±192.06 ns	1182± 291.28 ns	1979.3±205.46 ns	1522±204.53 ns	1881.8± 271.69 ns	٧
156.7± 42.95 b	679.1± 155.85 a	538.8± 95.48 ab	467.7± 155.46 ab	459.7± 112.13 ab	١٤
101.5± 41.81 b	57.7± 25.15 b	609.7± 94.64 a	222.4± 78.18 b	28.6± 12.81 b	٢١
37.54± 36.54b	84.7± 62.47b	1± 0 b	1239± 226.44 a	1± 0 b	٢٨
1± 0b	1579.4± 174.44 a	1387.8± 256.50 a	938.8± 192.19 a	1± 0b	٣٥
1± 0c	1717.4± 312.85a	1027.3± 112.79 b	1388± 173.10 ab	1± 0 c	٤٢

معايير الأضداد للمجموعات خلال التجربة (المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري)

المناقشة DISCUSSION

كان معيار الأضداد في اليوم الأول من العمر (5064.25± 1505.81) وقد انخفض في اليوم السابع في جميع المجموعات ولكن لم يلاحظ وجود اي فروق معنوية فيما بينها ولم يلاحظ أيضا وجود فروق معنوية في النتائج بين المجموعة G (والتي أعطيت لقاح متوسط في اليوم السابع من العمر) ومجموعة الشاهد السلبية L طيلة فترة التجربة.

المجموعة H والتي أعطيت لقاح مقوى في اليوم ١٤ من العمر لوحظ وجود ارتفاع معنوي في معيار الأضداد في اليوم ٤٢ مقارنة بمجموعة الشاهد السلبية.

المجموعة J والتي أعطيت لقاح متوسط في اليوم ٢١ من العمر لوحظ أيضا ارتفاع معنوي في معيار الأضداد في اليوم ٤٢ من العمر مقارنة بمجموعة الشاهد السلبية وقد كان هذا الارتفاع أعلى مما هو في المجموعة H.

المجموعة K والتي أعطيت لقاح مقوى في اليوم ٢١ من العمر لوحظ أيضا ارتفاع معنوي في معيار الأضداد في اليوم ٤٢ من العمر مقارنة بمجموعة الشاهد السلبية وقد كان هذا الارتفاع أعلى مما هو في المجموعتين H و J.

الاستنتاجات:

عند استخدام اللقاحات بشكل مبكر فإنها تتداخل مع المناعة الأمية وتضعف الاستجابة المناعية، وعلى الرغم من أن عمر الأمات التي أخذت منها الصيصان متقدم (بعمر ٥٥ أسبوع) إلا أنه كان معيار الأضداد النوعية عندها مرتفع، وقد أثر إعطاء اللقاح المبكر للصيصان (في اليوم السابع من العمر) بشكل سلبي ولم يفلح التحصين في التحفيز على تشكيل الأضداد وكما أن التحصين في اليوم ٢١ من العمر بقلح متوسط أو قلح مقوى أدى إلى تشكيل رد فعل ايجابي في تشكل الأضداد إلا أن مستوى الأضداد في يوم التحصين انخفض إلى مستوى متدني بحيث أصبح دون مستوى خط الحماية من المرض، وبناء على ما سبق يعتبر اليوم المناسب للتحصين هو اليوم ١٤ في التجربة فقد أدى إلى تشكيل ممتوى مرتفع من الأجسام المناعية، وبمقارنة معيار الأضداد في نهاية فترة التجربة بين اللقاح (المتوسط والمقوى) المعطى في اليوم ٢١ من العمر نجد أن اللقاح المقوى يحفز لاستجابة مناعية أعلى إلا أنه قد يؤدي لتدمير أشد في أنسجة الجراب مقارنة بالأول.

لذلك ينصح بإجراء فحص لمصل دم الكتاكيت قبل إجراء التحصين باستخدام اختبار الاليزا غير المباشرة للكشف عن مستوى الأجسام المناعية في الدم وتحديد اليوم المناسب للتحصين عندما يكون مستوى المناعة الأمية منخفض ومتجاسن .

المراجع

REFERENCES

- عبد العزيز، فهميم. ١٩٩٦. دراسة الواقع الوبائي لمرض التهاب جراب فابريشيوس في مزارع رعاية الفروج. مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث - سلسلة العلوم الزراعية - المجلد (١٨) - العدد (٦).
- Benton, W.J.; Cover, MS. and Rosenberger, J.K. (1967):* Studies on the transmission of the infectious bursal agent (IBA) of chickens. *Avian Dis* 11: 430- 438.
- Brambell, F.W.R. (1970):* The transmission of passive immunity from mother to young. *Frontiers of Biology*, 18: 20-41.
- Brown, F. (1986):* The classification and nomenclature of viruses: Summary of results of meetings of the International Committee on Taxonomy of Viruses in Sendai. *Intervirology* 25:141-143.
- Carter, G.R.; Wise, D.J. and Flores, E.F. (2005):* Birnaviridae: In *Virology*. Cited by www.ivis.org.
- Dohms, J.E. and Jaeger, J.S. (1988):* The effect of infectious bursal disease virus infection on local and systemic antibody responses following infection of 3-week-old broiler chickens. *Avian Dis*. 32: 632-640.
- Dohms, JE. and Saif, YM. (1984):* Criteria for evaluating immunosuppression. *Avian Dis*. 28:305-310.
- DormitorioA, T.V.; Giambro AC, J.J.; GuoA, K. and JackwoodB. D.J. (2007):* Molecular and Phenotypic Characterization of Infectious Bursal Disease Virus Isolates. *Avian Diseases* 51(2):597-600
- Etteradossi, N. (1995):* Progress in the diagnosis and prophylaxis of infectious bursal disease in poultry. *Comprehensive reports on technical items presented to the international committee or to regional commissions; (pp75-82):* Paris: OIE.
- Faragher, J.T. (1972):* Infectious bursal disease of chicken. *Vet. Bull.* 142: 361-396.
- Hair-Bejo, M.; Ng, M.K. and Ng, H.Y. (2004):* Day Old Vaccination Against Infectious Bursal Disease in Broiler Chickens *Poultry Science* 3 (2): 124-128, 2004.
- Hirai, K. and Shimakura, S. (1974):* Structure of infection bursal disease virus. *J Virol* 14: 957 -964.
- Hirai, K.; Shimakura, S.; Kawamoto, E.; Taguchi, F.; Kim, S.T.; Chang, C.N. and Iritani, Y. (1974):* The immunodepressive effect of infectious bursal disease virus in chickens. *Avian Dis* 18: 50-57.
- HUBBO, Kh.; ALOMAR, A. and FADEL, M. (2008):* Prevalence of IBD Virus in some areas of Syria. *Journal of AL-BAATH University*. Vol. 30- No: 8- pp 241-256.
- Ismail, N.; Saif, Y. and Moorhead, P. (1988):* Lack of pathogenicity of five serotype 2 infectious bursal disease virusin chickens. *Avian Dis*. 32: 757-759.
- Jackwood, D.J.; Saif, Y.M.; Moorhead, P.D. and Bishop, G. (1984):* Failure of two serotype II infectious bursal disease viruses to affect the humoral immune response of turkeys. *Avian Dis* 28: 100- 116.
- Lasher, H.N. and Shane, S.M. (1994):* Infectious bursal disease. *World'sPoult.Sci.*,50,133-166.
- Lojkic, I.Z. and Bidin B. Pokrc. (2008):* Sequence Analysis of both Genome Segments of Three Croatian Infectious Bursal Disease Field Viruses. *Avian Diseases Digest* 3(3): e25-e25.
- Lukert, P.D. and Saif, Y.M. (1997):* Infectious bursal disease, p. 721-738. In B. W. Calnek, B. W. Barnes, C. W. Beard, L.R. McDougald, and Y.M. Saif (ed.), *Diseases of poultry*, 10th ed. Iowa State University Press, Ames.
- Marquardt, W.; Johnson, R.B.; Odenwald, W.F. and Schlotthober, B.A. (1980):* An indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for measuring antibodies in chickens infected with infectious bursal disease virus. *Avian Dis*. 24: 375-385.
- McFerran, J.B.; McNulty, M.S.; McKillop, E.R.; Conner, T.J.; McCracken, R.M.; Collins, D.S. and Allan, G.M. (1980):* Isolation and serological studies with infectious bursal disease viruses from fowl, turkey and duck: Demonstration of a second serotype. *Avian Pathol* 9: 395-404.
- Nunoya, T.; Otaki, Y.; Tajima, M.; Hiraga, M. and Saito, T. (1992):* Occurrence of acute infectious bursal disease with high mortality in Japan and pathogenicity of field isolates in SPF chicken. *Avian Dis*. 36: 597-609.

Office international des epizooties world organis animal health. Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines.2008

Patricia, R.; Calderón, M.G.; Aguirre, S.; Periolo, O.; Torre, J. and Mattion, N. (2006): Characterization of Infectious Bursal Disease Viruses from Argentina. *Avian Diseases* 50(2):245-251.

Pedro Villegas, A.; Hamoud, M.; Purvis, L.B. and Perozo, F. (2008): Infectious Bursal Disease Subunit Vaccination. *Avian Diseases* 52(4): 670-674.

Rodenberg, J.; Sharma, J.M.; Belzer, S.W.; Nordgren, R.M. and Naqi, S. (1994): Flow cytometric analysis of B cell and T cell. Subpopulations in specific-pathogen- free chickens infected with infectious bursal disease virus. *Avian Dis.* 38: 16-21.

Rosenberger (1989): infectious bursal disease viruses. In: Isolation and idenrification of Avian pathogens, 3rd ed (Editorial committee: Purchase, H.C., Arp L.H Domermuth, C.H.and pearson, J.E) Kendall/Hunt publishing Company, Dubuque, Iowa, PP.165-166

Sivanandan, V. and Maheswaran, S.K. (1980): Immune profile of infectious bursal disease. I. Effect of infectious bursal disease virus on peripheral blood T and B lymphocyte in chickens. *Avian Dis.* 24: 715-725.

Tanimura, N. and Sharma, J.M. (1997): Appearance of T cells in the bursa of Fabricius and cecal tonsils during the acute phase of infectious bursal disease virus infection in chickens. *Avian Dis.* 41: 638-645.

Thornton, D.T. and Pattison, M. (1975): Comparison of vaccines against IBD. *J. Comp. Pathol.* 85:597-610.

Tizard, I.R. (2004): Veterinary immunology (an introduction). Seventh Ed. Elsvier publishing company. Philadilphia. USA.

Wyeth, P.J. and Cullen, G.A. (1976): Maternally derived antibody effect on susceptibility of chicks to infectious bursal disease. *Avian Pathol.*, 5: 253-260.