Assiut Vet. Med. J. Vol. 60 No. 143 October 2014

THE EFFECT OF GIVING INTERMEDIATE AND INTERMEDIATE PLUS GUMBORO VACCINES AT THE AGE OF 21

MAAMON AL AMIR* and ANOUAR. ALOMAR**
* Fact. of Vet. Med.-Albaath University.
**Fact. of Vet. Med.-Albaath University.
E-Mail: mamonvet@hotmail.com

ABSTRACT

Received at: 3/8/2014

Accepted: 16/11/2014

This research aims to study the sera evaluation of the interference between maternal derived antibodies and IBD vaccines which are given lately. This research experienced a group of chicks taken from old aged breeders and another young ones. These were divided into groups, each one contains 30 chicks. These groups were given (Intermediate and Intermediate plus) IBD vaccines when They were 21 day. Before vaccination The MDA were examined as well as the levels of the antibodies which were produced from the vaccination. There were found that the late Gumboro vaccination would risk the Birds by Disease, There we also found That the intermediate plus vaccination would stimulate higher immune respone than the intermediate one, but it will cause a great damage in Bursa tissues.

Keywords: *Intermediate, Intermediate plus, Gumboro vaccines, Age 21 day.*

تأثير إعطاء لقاحات الجمبورو المتوسطة والمقواة في اليوم ٢١ من العمر

مأمون الأمير ، أنور العمر
E-Mail: mamonvet@hotmail.com

تهدف هذه الدراسة إلى: تقييم مصلي للتداخلات بين المناعة الأمية ولقاحات الجمبورو المعطاة بعمر متأخر.

أجريت هذه الدراسة على مجموعة من صيصان دجاج اللحم أخذت من أمات (متقدمة في السن وأخرى صغيرة السن) وقسمت إلى مجموعات كل مجموعة تتألف من ٣٠ صوص أعطيت المجموعات لقاحات جمبورو مختلفة الضراوة (متوسطة و مقواة) بعمر ٢١ يوم ، وتمت مراقبة مستويات الأضداد الأمية قبل التحصين و كذلك معايرة الأضداد النوعية الناتجة عن إعطاء اللقاح أسبوعياً. وقد وجد أن تأخير التحصين ضد مرض الجمبورو يعرض القطيع لخطر الإصابة بالمرض و كما وجد أن اللقاح المقوى يحفز استجابة مناعية أعلى من اللقاح المتوسط إلا أنه قد يسبب تأذي أشد في نسيج الجراب.

INTRODUCTION
المقدمة

اكتشف مرض التهاب الجراب المعدي أو مرض الجمبورو لأول مرة عام ١٩٦٢ (Cosgrove, 1962) ، ونظراً لكون المرض قد اكتشف في منطقة جمبورو Gumboro في الولايات المتحدة الأميركية فإن تسمية (جمبورو) قد ارتبطت بالمرض ولازالت تستخدم حتى الآن (Lukert and saif,1997). وقد سجلت إصابات بالمرض في العديد من دول العالم (Faragher, 1972).

ومنها الجمهورية العربية السورية حيث سُجِلَ المرض فيها مرض الجمبورو لأول مرة عام ١٩٩٦(عبد العزيز ، ١٩٩٦) ، حيث انتشر المرض في القطر مسبباً خسائر اقتصادية كبيرة (Hubbo *et al.*, 2008).

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; Practica *et al.*, 2006; Pedro *et al.*, 2008).

وهو من الفيروسات العارية ، ذو انتظام عشاري الوجوه ، يتراوح قطره ما بين ٥٥-٦٥ نانومتر (Hirai and Shimakura, 1974) ، يحتوي على الحمض النووي الريبي RNA مضاعف السلسلة (Pedro *et al.*, 2008) ، يتألف الجين الفيروسي (genome) من قطعتين (A-B) حيث القطعة (A) تُشَفِر أربعة بروتينات فيروسية (VP2 - VP3 - VP4 - VP5) ، والقطعة (B) تُشَفِر البروتين الفيروسي (VP1). ولفيروس مرض التهاب الجراب المعدي نمطين مصلين هما النمط المصلي1 والنمط المصلي 2

(Jackwood *et al.*, 1984; McFerran *et al.*, 1980) ، إذ يصيب النمط المصلي الأول الدجاج الفتي (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 Serotype1 ، يصيب الدجاج ويسبب تثبيطاً للجهاز المناعي فيها ، ويضم ثلاث أنواع من العترات مختلفة في شدة الإمراضية (Patricia *et al.*, 2006):

آ- 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- عترات شديدة الضراوة Very Virulent IBDV Strain
ج- العترات المتغايرة Variant IBDV Strain

أما النمط المصلي الثاني Serotype 2 فيُعد مسبباً للمرض في الدجاج الرومي (Ismail *et al.*,1988) ، وهو غير ممرض للدجاج. 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 والقمل 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 ٦٥ م° لمدة خمس ساعات على الأقل، وعند درجة الحرارة ٣٠ م° لمدة ٦٠ دقيقة. كما أنه يقاوم الفينول ٠,٥%، ولا يتأثر بالايثير والكلوروفورم ودرجة الباهاء عند pH= 2، إلا أنه يتعطل عند pH=12 وتنخفض فعالية الفيروس بشكل واضح عند معاملته بالفورمالين ٥ % لمدة ٦ ساعات (Benton *et al.*,1967; Rosenberger *et al.*, 1989).

يُعد جراب فابريشص الهدف الرئيس للفيروس Target Organ والذي يعتبر أحد الأعضاء اللمفاوية الأولية Primary lymphoid organ حيث يحدث فيه نضج وتمايز للخلايا اللمفاوية البائية B ، والتي هي مصدر إنتاج الجلوبيولينات المناعية والتي تساهم في المناعة الخلطية ، (Tanimura and Sharma,1997).

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

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

يتم السيطرة على المرض عن طريق تطبيق إجراءات التحصين والأمن الحيوي وتأمين مناعة كافية عند الطيور وهناك طريقتان رئيسيتان للحصول على مناعة جيدة عند الطيور هما التمنيع الفاعل (Active immunization) والتمنيع المنفعل (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 MDA (maternal derived antibodies) بعبور IgG من مصل دم الفرخة إلى الأجنة (Brambell, 1970) ويتراوح نصف حياة الأضداد النوعية لفيروس الجمبورو ما بين ٣-٥ أيام في الصيصان وقد تبين أن MDA قادرة على معادلة IBDV (Wyeth and Cullen, 1976) ولذلك فإنه يجب التأكد من أن مستوى MDA مرتفع بشكل كافي لتأمين حماية من الإصابة بـ IBD (Nunoya *et al.*, 1992) خصوصاً خلال الأسابيع ٢-٣ الأولى من العمر قبل التحصين لـ IBD وإلا فيجب القيام بالتحصين المبكر.

إن التحصين في اليوم الأول لصيصان لديها مستوى منخفض أو ليس لديها MDA باستخدام عترات لقاحات مضعفة متوسطة أو مقواة لـ IBD يشكل خطراً كبيراً كونه يؤدي لتثبيط مناعي شديد نتيجة التدمير الشديد للجراب ، وعلى عكس ما سبق إن عدم قدرة فيروس اللقاح على معادلة 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).

لقد وجد أنه هناك العديد من القطعان التي أصيبت بالـ IBD قد حصنت بلقاح الجمبورو الحي عن طريق ماء الشرب وبأعمار تتراوح بين ٧-٢٤ يوم ، وربما يكون سبب الخمج هو فشل التحصين نتيجة لعدم تقدير العمر المناسب للتحصين، أو بسبب وجود مستوى مرتفع من الأضداد الأمية ، أو الخطأ في طريقة التحصين، أو فوعة اللقاح المستخدم (Eterradossi and Saif, 2008).

وقد وجد أنه إذا حصنت الطيور قبل الوقت المناسب للتحصين بأكثر من يوم واحد فإن الاستجابة المناعية الخلطية تتأخر أو لا تلاحظ مطلقاً (Block *et al.*, 2007).

ولرسم مخطط الأضداد للقطيع (flock profiling) يمكن مراقبة مستويات الأضداد في قطعان الأمات أو في صيصانها الفاقسة حديثاً حيث أن ذلك يمكن أن يساعد في تحديد الوقت المناسب للتحصين (Eterradossi and Saif, 2008) ، مع الانتباه إلى أنه إذا أخذت عينات المصل من الصيصان الفاقسة حديثاً عادةً يكون معدل الأضداد أقل بـ ٦٠-٨٠% مما هو عند الأمات (Eterradossi and Saif, 2008)

الأهـــداف (Objectives):

١- تقييم مصلي للتداخلات بين المناعة الأمية ولقاحات الجمبورو المعطاة بعمر متأخر.
٢- دراسة تأثير تأخير إعطاء لقاح الجمبور لطيور الفروج.
٣- مراقبة الاستجابة المناعية الناتجة عن إعطاء اللقاح في اليوم ٢١ من العمر.

MATERIALS and METHODS
مواد وطرائق العمل

مواد البحث:
تم تربية طيور التجربة في حظيرة كلية الطب البيطري لجامعة البعث وأنجزت الاختبارات أيضا في مخابر الكلية.

- الطيور Birds:
تم الحصول على صيصان بعمر يوم واحد من سلالة تجارية معروفة من مصدرين للأمات مختلفين في العمر.

المصدر الأول: **Group1** تتكون من ٧٥ صوص بعمر يوم واحد ، أخذت من أمات صغيرة العمر (عمر الأمات عند الحصول على صيصان التجربة ٣٧ أسبوع).
المصدر الثاني: **Group2** تتكون من ٧٥ صوص بعمر يوم واحد ، أخذت من أمات كبيرة العمر (عمر الأمات عند الحصول على صيصان التجربة ٥٥ أسبوع).

تمّ تربية الطيور لمدة ٤٢ يوم في مجموعات منفصلة ، مع مراعاة شروط التربية الصحية وبتطبيق إجراءات الامن الحيوي ، وتمت تغذيتها على أعلاف تجارية دون إعطاء أي معالجات دوائية بالصادات الحيوية ودون إعطاء أي فيتامينات.

- اللقاحات Vaccines:
استُخدم في هذه الدراسة :
- لقاح الجمبورو الحي متوسط الضراوة intermediate vaccines
- لقاح الجمبورو الحي المقوى Intermediate plus vaacines

B- الطرق Methods
بلغ عدد الطيور في بداية التجربة ١٥٠صوص في اليوم الأول من العمر قسمت إلى مجموعات كما يلي :

- المجموعة الأولى Group1:
ربيت الطيور كمجموعة واحدة من اليوم ١ وحتى ٢١ من العمر واعتباراً من اليوم ٢١ قُسِمت إلى ثلاث مجموعات متساوية في العدد يتكون كل منها من ٢٥ طائر وهي:
مجموعة D1: حُصنت بلقاح متوسط في اليوم ٢١ من العمر.
مجموعة E1: حُصنت بلقاح مقوى في اليوم ٢١ من العمر .
مجموعة F1 : لم تُحصن و أبقيت كشاهد سلبي.

- المجموعة الثانية Group2:
ربيت الطيور كمجموعة واحدة من اليوم ١ وحتى ٢١ من العمر واعتباراً من اليوم ٢١ قُسِمت إلى ثلاث مجموعات متساوية في العدد كل منها يتكون من ٢٥ طائر وهي:
مجموعة D2: حُصنت بلقاح متوسط في اليوم ٢١ من العمر
مجموعة E2: حُصنت بلقاح مقوى في اليوم ٢١ من العمر .

مجموعة F2 : لم تُحصن و أبقيت كشاهد سلبي.

- عينات الدم **Blood Samples :**

جُمعت ٢٠ عينة دم في اليوم الأول من العمر عن طريق الوريد الوداجي لصيصان كل من المجموعتين Group1 و Group2 وذلك للكشف عن المستوى الأضداد الأمية في اليوم الأول.

ومن ثم تم تتبع مستويات الأضداد وجمعت عينات الدم أسبوعياً حيث تم جمع ٣٠ عينة دم في الأيام ٢١,١٤,٧ من العمر من الوريد الوداجي لصيصان المجموعتين Group1 و Group2.

اعتباراً من اليوم ٢١ من العمر تم تقسيم الطيور إلى ٦ مجموعات هي (D1,E1,F1) و (E2,D2,F2) كما هو موضح سابقاً، وأعطيت اللقاحات وفق المواعيد المذكورة أعلاه ، وتم جمع١٠ عينات دم من طيور كل مجموعة من المجموعات السابقة في الأيام (٤٢,٣٥,٢٨) للكشف عن الاستجابة المناعية الناتجة عن إعطاء اللقاح.

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

حفظت عينات المصل في أنابيب ابندورف بدرجة حرارة -٢٠ درجة مئوية لتتم معايرة الأضداد لاحقاً.

طريقة التحصين Vaccination:

أعطي اللقاح عن طريق التقطير بالعين حيث تمت إماهة محتويات عبوة اللقاح المجفد بالمذيب الخاص به وذلك حسب تعليمات الشركة المصنعة.

التقنيات المخبرية Laboratory Techniques:

المقايسة المناعية بالأنزيم المرتبط غير المباشرة Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay:

استخدم اختبار الإليزا غير المباشرة للكشف عن مستـوى الأضداد الموجـودة في مصـل دم الطيـور حسـب طريقـة (Marquardt *et al.*,1980; Rosenberger,1989; OIE, 2008) وذلك باستخدام مجموعتان تشخيصيتان من شركة IDEXX الأمريكية (Serial No.:09260-EE206).

تحضير عينات المصل للاختبار Preparation of serum samples:

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

طريقة العمل:

توضع الكواشف بدرجة حرارة الغرفة (٢٠°-٢٧° م) ومزجت جيداً قبل الاستخدام.

١- وضعت ١٠٠ ميكرو ليتر من الشاهد السلبي 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 المقترن Conjugate لكل الحفر بما فيها حفر الشاهد الإيجابي و السلبي.
٧- كررت الخطوتين 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 الـ Substrate إلى الصف الأول للطبق.
١٠- أضيفت ١٠٠ميكرو 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 للـIBD والموجودة في عينة المصل المختبرة ، ويعبر عن ذلك بقياس شدة اللون بواسطة جهاز قارئ الإليزا (Micro plate reader) ويعبر عن ذلك بوحدة الكثافة البصرية (O.D) Optical Density 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 Sample to positive ratio (S/P).

وحتى تكون نتائج العمل صحيحة يجب أن يكون الفرق بين متوسط الشاهد الإيجابي و متوسط الشاهد السلبي $PC\bar{x}$-$NC\bar{x}$) 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 الـ IBD.

تم حساب معايير الأضداد بواسطة الحاسوب

Negative control mean ($NC\bar{x}$)

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

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

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

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

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

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

التحليل الإحصائي Statistical analysis:
تم تحليل مختلف المعطيات التي تم قياسها خلال فترة التربية إحصائياً بواسطة تحليل المتغيرات Analyse of Variance و المسمى اختصاراً ANOVA (Analysis OF Variance)، عندما تكون الفروق معنوية بين قيم المتوسطات الحسابية لمعايير الأضداد ، يتم إجراء اختبار نيومن كولس Newman-Keuls. جميع المعطيات تم تحليلها بواسطة البرنامج الإحصائي (Statistica version8, Stat Soft 2008, USA)

RESULTS
النتائــج

- تتبع المناعة الأمية:

المجموعة الأولى Group1: أظهرت النتائج أن متوسط معيار الأضداد في اليوم الأول من العمر (٥٦٩٤,٩) وقد تراوحت معايير الأضداد لهذه المجموعة من (٢٢٧٦) إلى (٧٨٨٨) ، وقد لوحظ انخفاض معيار الأضداد تدريجياً حتى اليوم ٢١ من العمر الجدول رقم (١).

المجموعة الثانية Group2: أظهرت النتائج أن متوسط معيار الأضداد في اليوم الأول من العمر (٥٠٦٤,٢٥) وقد تراوحت معايير الأضداد لهذه المجموعة من (٣١٤٤) إلى (٨٧٦٠)، وقد لوحظ أيضاً انخفاض معيار الأضداد تدريجياً اعتبار من اليوم الأول حتى اليوم ٢١ من العمر الجدول رقم(٢).

- الاستجابات المناعية الناتجة عن التحصين:

لوحظ تشكل استجابة مناعية لدى طيور المجموعات (D1,D2) والمجموعات (E1, E2) وقد أظهرت الدراسة الإحصائية عدم وجود فرق معنوي بين المجموعة D1 المحصنة بلقاح متوسط في اليوم ٢١ والمجموعة E1 المحصنة بلقاح مقوى في اليوم ٢١ - خلال الأيام ٢٨,٣٥ من العمر- ولكن لوحظ وجود فرق معنوي بين هذه المجموعات في اليوم ٤٢ من العمر، الجدول رقم (١).

وقد كانت نتائج الدراسة الإحصائية لدى المجموعتين (D2,E2) مشابهة لما سبق الجدول رقم (٢).

جدول رقم١ : متوسط معايير الأضداد Group1.

العمر بالأيام		المجموعة X±SD	
١		5694.9±292.99 N=20	
٧		2338.12±146.58 N=30	
١٤		651.68±84.42 N=30	
٢١		234.57±40.66 N=30	
٢٨	المجموعة D1 57.5±30.06^{ns} N=10	المجموعة E1 21.40±20.40^{ns} N=10	المجموعة F1 55.50±19.33^{ns} N=10
٣٥	المجموعة D1 1250.60±131.14^{a} N=10	المجموعة E1 1390.10±264.42^{a} N=10	المجموعة F1 1.00±0.00^{b} N=10
٤٢	المجموعة D1 1514.66±197.38^{b} N=10	المجموعة E1 2601.10±301.82^{a} N=10	المجموعة F1 1.00±0.00^{b} N=10

حيث أن:

X±SD = المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري لـ N عينة باختبار الإليزا غير المباشرة ، N= عدد العينات المختبرة الأحرف a,b,c تشير إلى المجموعات المتغايرة إحصائيا بمعنى a>b>c عند مستوى معنوية p<0.05 ، ns= الفروقات بين المتوسطات غير معنوية.

مجموعة D1= حصنت بلقاح متوسط في اليوم الواحد والعشرين ، مجموعة E1= حصنت بلقاح مقوى في اليوم الواحد والعشرون من العمر ، مجموعة F1= ابقيت كشاهد سلبي ولم تحصن .

جدول رقم٢ : متوسط معايير الأضداد Group2.

العمر بالأيام		المجموعة X±SD	
١		5064.25±336.71 N=20	
٧		1647.04±130.32 N=30	
١٤		460.58±66.07^{ns} N=30	
٢١		256.30±57.76^{ns} N=30	
٢٨	المجموعة D2 1.00±0.00^{ns} N=10	المجموعة E2 84.70±62.47^{ns} N=10	المجموعة F2 1.00±0.00^{ns} N=10
٣٥	المجموعة D2 1387.80±256.50^{a} N=10	المجموعة E2 1579.40±174.44^{a} N=10	المجموعة F2 1.00±0.00^{b} N=10
٤٢	المجموعة D2 1322.25±123.67^{b} N=10	المجموعة E2 1717.40±312.85^{a} N=10	المجموعة F2 1.00±0.00^{c} N=10

حيث أن:

X±SD = المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري لـ N عينة باختبار الإليزا غير المباشرة ، N= عدد العينات المختبرة الأحرف a,b,c تشير إلى المجموعات المتغايرة إحصائيا بمعنى a>b>c عند مستوى معنوية p<0.05 ، ns= الفروقات بين المتوسطات غير معنوية.

مجموعة D2= حصنت بلقاح متوسط في اليوم الواحد والعشرين ، مجموعة E2= حصنت بلقاح مقوى في اليوم الواحد والعشرون من العمر ، مجموعة F2= ابقيت كشاهد سلبي ولم تحصن.

DISCUSSION
المناقشة

يتم التحصين ضد مرض التهاب الجراب المعدي IBD في سوريا بمواعيد مختلفة وبأعمار تتراوح من ٧-٢١ يوماً، إما لمرة واحدة أو لمرتين (تحصين أولي وداعم) ، وإن موعد التحصين لمرض الجمبورو يرتبط بمعيار الأضداد الأمية لدى الصيصان.

ولتجنب تعارض اللقاح المعطى مع المناعة الأمية يلجأ بعض المربين لتأخير موعد التحصين حتى ١٩-٢١ يوم من العمر وقد تمكنت هذه الدراسة من تتبع استدامة الأضداد الأمية عند الصيصان ، ومن دراسة تأثير تأجيل إعطاء لقاح الجمبورو حتى اليوم ٢١ من العمر ، ومن دراسة الفروقات في الاستجابات المناعية الناتجة عن اختلاف عترة اللقاح المستخدم.

وقد أظهرت الدراسة الإحصائية عدم وجود فرق معنوي في مستوى الأضداد في اليوم الأول من العمر عند صيصان المجموعتين Group1 و Group2 بالرغم من اختلاف عمر الأمات التي أخذت منها هذه الصيصان (٣٧ أسبوع و ٥٥ أسبوع) على التتالي ، ويعتقد أن ذلك يعود إلى الفرق في كفاءة برامج التحصين عند قطعان الأمات ، يشير ذلك إلى أنه لا يكتفى بالاعتماد على عمر الأمات لتقدير مستوى الأضداد عند الصيصان والتكهن باليوم الأنسب للتحصين وإنما يستدعي ذلك لزوم اختبار عينات الدم للصيصان في اليوم الأول للتربية لتحديد مستوى الأضداد وتقدير اليوم الأنسب للتحصين.

كما لوحظ أن مستوى الأضداد ينخفض بشكل تدريجي خلال ٢١ يوماً بعد الفقس (عند طيور كل من المجموعتين Group1,Group2) أي أنه من غير الممكن توفير حماية لدجاج اللحم عن طريق المناعة المنفعلة طيلة فترة التربية، وهذا يشير إلى ضرورة تحصين دجاج اللحم خلال فترة التربية وهذا ما يتوافق مع (Vanden Berg and Meulemans, 1991) ، وقد وجد أن معدل انخفاض الأضداد هو تقريبا النصف كل ٣.٥ يوم.

لدى مقارنة معيار الأضداد في اليوم ٤٢ من العمر وجد أن أعلى معيار للأضداد كان في تلك المجموعات المحصنة بلقاح مقوى في اليوم ٢١ من العمر وهذا يفسَر بأن شدة الاستجابة المناعية للقاح ترتبط بمستوى الأضداد الأمية للصيصان عند التحصين إلا أنه من الممكن أن تتشكل فرصة لخمج الطيور في مجموعات التجربة التي حصنت في اليوم٢١ (D1,D2,E1,E2) قبل يوم التحصين وذلك لأن معيار الأضداد انخفض إلى أدنى من المعدل الايجابي خلال ١٦-٢١ يوماً بعد الفقس في هذه المجموعات ، كما أن التحصين سيستغرق على الأقل حوالي ٥-٧ أيام لإنتاج الأضداد وعندئذ تكون الطيور عرضة للإصابة لمدة ١٠-١٤ يوماً وهذا يتوافق مع (Alam *et al.*, 2002) إذ إن العمر الأكثر قابلية للإصابة بمرض الـ IBD هو بين ٣-٦ أسابيع وفقاً لـ (Eterradossi and Saif, 2008).

CONCLUSIONS and RECOMMENDATION
الاستنتاجات والتوصيات

. يرتبط موعد التحصين لمرض الجمبورو بشكل أساسي بمستوى الأضداد الأمية عند الصيصان وبنصف عمر هذه الأضداد.

. ضرورة إجراء اختبار الاليزا في اليوم الأول من العمر للكشف عن مستوى الأضداد الأمية وعدم التكهن بموعد التحصين المناسب بالاعتماد على عمر الأمات فقط.

. إن تأخير التحصين حتى اليوم ٢١ من العمر (دون دراسة الحالة المناعية للطيور) قد يجعل القطيع معرض لخطر الإصابة بالمرض.

. إن اللقاح المقوى قد يحفز استجابة مناعية أعلى من اللقاح المتوسط ولكن من المتوقع أن يحدث تدمير شديد لخلايا الجراب خصوصاً عند وجود مستوى متدني من الأضداد الأمية.

. توقيت التحصين ، ونوع اللقاح المستخدم، ومستوى MDA عند الصيصان ، وتحدي وإمراضية الـ IBDV الحقلية هي عوامل هامة لتحديد فعالية وشكل برنامج التحصين لالتهاب الجراب المعدي.

REFERENCES
المراجع

عبد العزيز، فهيم (١٩٩٦): دراسة الواقع الوبائي لمرض التهاب جراب فابريشيوس في مزارع رعاية الفروج. مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث – سلسلة العلوم الزراعية – المجلد (١٨) – العدد (٦).

Alam, J.; Rahman, M.M.; Sil, B.K.; Khan, M.S.R. and Giasuddin Sarker, M.S.K. (2002): Effect of maternally derived antibody on vaccination against infectious bursal disease (Gumboro) with live vaccine in broiler, International Journal of Poultry Science, 1, 4, 98-101.

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.

Block, Hermann, Meyer-Block, Karen, Rebeski, Dierk E.; Scharr, Heike, de Wit, Sjaak, Rohn, Karl and Rautenschlein, Silke' (2007): A field study on the significance of vaccination against infectious bursal disease virus (IBDV) at the optimal time point in broiler flocks with maternally derived IBDV antibodies', Avian Pathology, 36: 5, 401-409.

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.

Cosgrove, A.S. (1962): An apparently new disease of chicken avian-nephrosis. Avian Dis.6:385-389.

Dohms, JE. and Saif, YM. (1984): Criteria for evaluating immunosuppression. Avian Dis. 28:305-310.

DormitorioA, T.V.; GiambroneAC, 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.

Eterradossi, N. and SAif, Y.M. (2008): Infectious Bursal Disease pp. 185-208 12 edition.

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.

Lojkic, I.Z. 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 (2008): Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines.

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.

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.

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. Elsivier publishing company .Philadilphia. USA.

Vanden Berg, T.P. and Meulemans, G. (1991): Acute infectious bursal disease in poultry; protection afforded y maternally- derived antibodies and interference with live vaccination. Avian Pathol. 20: 409-421.

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.