

7-Abstract

The present work was conducted to evaluate through a controlled vaccination study with artificial challenge the protective value of three different inactivated *Mycoplasma Gallisepticum* bacterins in comparison with efficacy of the living *Mycoplasma Gallisepticum* "F" strain vaccine. Three different preparations of inactivated vaccines were evaluated with regard to their efficiency in conferring protective immunity against *Mycoplasma Gallisepticum* infection.

The first inactivated vaccine was a formalin inactivated *Mycoplasma Gallisepticum* vaccine .The second inactivated vaccine was a saponin inactivated *Mycoplasma Gallisepticum* vaccine .

The third inactivated vaccine was a binary ethyleneimine inactivated *Mycoplasma Gallisepticum* vaccine .

The protective value of these vaccines was compared by measuring antibody titers in sera at different intervals after vaccination by SPA and ELISA test and by scoring of sinus lesions after challenge.

The result of this study suggest that inactivated bacterins elicits a protective response in chickens.

المستخلص العربي

تم تجميع ٣٠٠ كتكوت عمر يوم واحد خالية من ميكروب الميكوبلازما وتم تربيتهم الي عمر ١٠ اسابيع . ثم قسمت الطيور الي ٥ مجموعات كل مجموعة ٤٠ طائر. تم التحصين باللقاحات المحضرة والمجموعة الخامسة الضوابط المجموعه الاولى تم تحصينها باللقاح الحي (من العترة فـ) ٣٠ مللى الي ٥٠٠ مللى فى ماء الشرب وبعد ثلاثة اسابيع تم تحصين الطيور بنفس الجرعة كجرعة منشطة.

تم تحصين المجموعات الثلاثة باللقاحات الميتة (لقاح الفورمالين ، لقاح الصابونين ، لقاح البينرى على التوالي) بحقن الدجاج ١ مللى تحت الجلد وبعد ثلاثة اسابيع تم تحصين الطيور بنفس الجرعة كجرعة منشطة.

تم جمع عينات الدم فى كل المجموعات وفقا لجدول زمنى معين و عمل اختبار التحدى فى يوم ٣٦ بعد الجرعة الاولى ثم تم تقييم الكفاءة المناعية للقاحات باختبار التلازن والاليزا و اختبار التحدى.

وقد لوحظ ان اعلى زيادة معنوية فى اجمالى الأجسام المناعية فى سيرم الدجاج المحصن بلقاح البينرى كما أنه لا يوجد اختلاف معنوى فى الأجسام المناعية فى سيرم الدجاج المحصن بلقاح البينرى و الصابونين بعد الجرعة المنشطة وكانت القدرة على الصد عالية فى المجموعات المحصنة بلقاح البينرى و الصابونين و اللقاح الحي وأقل فى المجموعة المحصنة بالفورمالين.

CONTENTS

<u>Subjects</u>	<u>Page</u>
1-INTRODUCTION	1
2-REVIEW OF LITERATURE	5
2. 1. Historical review of avian <i>Mycoplasma</i>	
2.2. <i>Mycoplasma gallisepticum</i> infection in chickens	8
2.3. Immunization with <i>Mycoplasma gallisepticum</i> bacterins	13
2.4. Immunization with Living <i>Mycoplasma gallisepticum</i> vaccines	24
2. 5. Evaluation of the immune status developed against <i>Mycoplasma gallisepticum</i> vaccines	37
2 .5 . 1. Serum Plate Agglutination (SPA) Test	37
2. 5. 2. ELISA test	40
3-MATERIAL AND METHODS	46
3-1-MATERIALS	46
3.1.1. <i>Mycoplasma gallisepticum</i> strain	46
3-1.1.a."F" Strain	46
3.1.1.b.R. Strain	46
3.1.2. Media used for isolation and identification of <i>Mycoplasma</i>	47
3.1.2.a. PPLO Medium	47
3.1.3.Reagents	47
3.1.4. Inhibitors	48
3.1.5. Materials used for serological Examination	49
3.1.5.a. Materials used for serum plate agglutination test	49
3.1.5.b. Materials used for ELISA	49
3.1.6.Other materials	50
3.1.6.1. Inactivators	50
3.1.6.2. Adjuvant	51
3.1.7.Experimental chickens	51
3-2-Experimental design	52
3-3-Methods	55

3.3.1.Preparation of living "F" strain <i>Mycoplasma gallisepticum</i> vaccine	55
3.3.2.Preparation of <i>Mycoplasma gallisepticum</i> adjuvant bacterin	55
3.3.2.1.Preparation of Formalin inactivated <i>Mycoplasma gallisepticum</i> bacterin	55
3.3.2.2.Preparation of Saponin inactivated <i>Mycoplasma gallisepticum</i> bacterin	56
3.3.2.3.Preparation of Binary ethyleneimine (BEI) inactivated <i>Mycoplasma gallisepticum</i> bacterin	57
3.3.2.4.Adjuvant supplementation to the prepared bacterin	57
3.3.3. vaccination with living "F" strain vaccine	57
3.3.4. Vaccination with inactivated <i>Mycoplasma gallisepticum</i> :	58
3.3.5. Evaluation of the immunizing power of the prepared vaccines	58
3.3.5.1 Serological tests	58
3.3.5.1.1.Collection of the serum samples from chickens in all tested groups	58
3.3.5.1.2. Serum plate agglutination test	59
3.3.5.1.3. Enzyme linked immunosorbent assay protocol test (ELISA)	60
3.3.5.2.Challenge test	64
4-RESULTS	65
5-DISCUSSION	102
6-CONCLUSION	112
7- Abstract	113
7-SUMMARY	114
8-REFERENCES	118
9-ARABIC SUMMARY	149

List of abbreviations

SPA	Serum plate agglutination test.
HI	Haemagglutination inhibition test.
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay.
CRD	Chronic respiratory disease.
PPLO	Pleuropneumonia like organism.
M.g	Mycoplasma gallisepticum.
RPA	Rapid plate agglutination.
MS	Mycoplasma synoviae.
SAT	Serum agglutination test.
DNA	Deoxy-ribonucleic acid.
PBS	Phosphate buffer saline.
IgG	Immunoglobulin G.
Fig	Figure.
CFU	Colony forming unit.
BEI	Binary ethyleneimine.
Th ₂	Thelper.
HA	Haemagglutination test.
MPC	Multilamellar positively charged.