

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

التدخل بين المناعة الأمية واللقاحات الحية التجارية لمرض الجمبورو عند صيغان الفروج

مأمونالأمير، أنورالعمر

طالب در اساتیز علیاً- ماجستیر فی قسم الایحاء الدقیقۃ فی کلیة الطب البیطري بجامعة العیث- سوری. استاذ مساعد فی علم الفیروسوت فی قسم الایحاء الدقیقۃ فی کلیة الطب البیطري بجامعة العیث- سوری.

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

أجريت الدراسة على مجموعة من صيغان أخذت من أمات متقدمة في السن وقسمت إلى خمس مجموعات كل مجموعة تتألف من 24 صور بعمر يوم واحد أقيمت مجموعة واحدة كشاهد سلبي. المجموعات المتبقية أعطيت لاقاحات جمبو و مختلفة الضراوة وبأعمار مختلفة، وتمت معابرة مستويات الأضداد النوعية الناتجة عن إعطاء اللقاح وذلك أسبوعياً. وقد وجد أن المستويات المرتفعة من الأضداد الأممية قادرة على التأثير على اللقاح المعطى وأنه عند استخدام لقاح الجمبو بشكل مبكر فإنهما تتدخل مع المناعة الأممية وتضعف الاستجابة المناعية ضدتها حيث أن 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 لتممير أشد في أنسجة الجراث.

المقدمة
INTRODUCTION

في الجمهورية العربية السورية فقد سُخّنَ فيها مرض الجمورو 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 الجمورو مرضًا اقتصاديًّا مهمًّا على المستوى العالمي، حيث انتشر في أكثر من 95% من الدول الأعضاء، وما يزيد على 80% من هذه الدول حدث فيها المرض بالشكل الحاد .(Eterradossi, 1995)

ينتني العامل المسبب لمرض الجمورو إلى عائلة بيرنا Birnaviridae (Carter *et al.*, 2005)، وهي تضم ثلاثة أجناس رئيسية، واحد منها فقط يسبب الطيور ويدعى Avibirnavirus، وهو بدوره يضم نوعاً واحداً فقط (Brown, 1986; Chettle *et al.*, 1989; Practica *et al.*, 2006)؛ Pedra *et al.*, 2008)

وهو من الفيروسات العاربة، ذو انتظام عشاري الوجه، يتراوح قطره ما بين 55-65 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) تشفّر أربعة بروتينات فيروسية (VP2 - VP3 - VP4 - VP5)، والقطعة (B) تشفّر البروتين الفيروسي (VP1). ولفيروس مرض التهاب الجراث المعدي نمطين مصلين هما النمط المصلي 1 والنمط المصلي 2 (McFerran *et al.*, 1980; Jack wood *et al.*, 1984؛ Patricia *et al.*, 2006)، إذ يصيب النمط المصلي الأول الدجاج الفتى (OIE, 2008)، وتم الكشف عن الأصداد النوعية للنمط المصلي الأول في أنواع الطيور الأخرى مع عدم ظهور أعراض المرض عليها، وتستخدم لقاحات مرض التهاب الجراث المعدي ضد النمط المصلي الأول (Dormitorio *et al.*, 2007).

آ- العبرات الكلاسيكية Classic IBDV Strain: وتنتمي إليها العترة الكلاسيكية الضاربة Virulent Classic IBDV التي تنتشر في أنحاء مختلفة العالم (Lojkic et al., 2008 ; OIE, 2008).

بـ- العترة شديدة الضراوة Very Virulent 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 أضداد نوعية للنمط المصلي الثاني في الدجاج والبط دون ظهور أيَّة 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 باللامس المباشر بين الطيور، وعن طريق الأدوات والمواد الملوثة والأشخاص والهواء وغيره، إلا أنه لا ينتقل من الأمات إلى الصيصان بشكل عمودي، ويُطرح الفيروس بعد 24 ساعة من العدوى، أما فتره الحضانة فتتراوح ما بين 4-2 أيام.

يحافظ الفيروس على حويته عند درجة الحرارة 56°C لمدة خمس ساعات على الأقل، وعند درجة الحرارة 60°C لمدة 30 دقيقة. كما أنه يقاوم H_2O_2 بنسبة 0.5%， ولا يتاثر بالابلاستير والكلوروفورم ودرجة الباهاء عند $\text{pH}=2$ ، إلا أنه يتاثر عند $\text{pH}=12$ وتتحفظ فعالية الفيروس بشكل واضح عند معاملته بالغور مالين 5% لمدة 6 ساعات (Benton *et al.*, 1967; Rosenberger *et al.*, 1989).

يُعد الجراثيم الهدف الرئيسي للفيروسes Target Organ والذى يعتبر أحد الأعضاء الملموسة الأولية Primary lymphoid organ حيث يحدث فيه نضـج وتمـايـز لـلـلـلـفـاـوىـيـةـ الـبـانـيـةـ B، والتـيـ هيـ مـصـ درـ إـنـتـاجـ الـجـلـوبـيـولـينـ مـاتـ المـنـاعـيـةـ وـمـاـ يـتـعلـقـ بـالـمـنـاعـ ذـهـ الخـلـطـيـ ذـهـ (Tanimura and Sharma, 1997).

جـ- راب فابريشوس هـ - العرضـ و المفـ اوـي الوـحـيد المـختص بـتمـاـيزـ و اـنـقـسـامـ الـخـلاـياـ المـلـفـاوـيـةـ Bـ وـهـ الـجـزـءـ المـسـتـهـدـفـ لـقـيـرـوـسـاتـ (Dohms *et al.*, 1988; Sivandan and Maheswaran, 1980; Rodenberg *et al.*, 1994).

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

(Dohms and Saif, 1984) IBD يكُون مسؤولاً لا عن مضاعفات الاصابة بأخْماَجٍ حَلَقَلَةٍ اخْرَى، عن التبَطِّيلِ المَنَاعِرِ، الناتج عن الاصابة بـ

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

يوجد نوعان من هذه اللقاحات هما الأكثر توفرًا للسيطرة على المرض وهي إما لقاحات حية مضعفة (OIE, 2008; Thornton and Pattison *et al.*, 1975) أو لقاحات خاملة.

تحضر اللقاحات الحية من عترات حقلية للفيروس مضعفة على المزارع الخلوية أو على أجنة بيين الدجاج وتختلف هذه اللقاحات فيما بينها تبعاً لضراوتها (درجة 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 (brambell, 1970) (maternal derived antibodies IgG) من مصل دم الفرخة إلى الأجنة ويترافق حياً الأضداد النوعية لفيروس الجبورو ما بين 5-3 أيام في الصيصان وقد تبين أن MDA فادرة على معاملة IBDV IBD (wyeth and Cullen, 1976) مرتفع بشكل كافي لتأمين حماية من الإصابة بـ IBD (Nunova et al., 1992).

إن التحسين في اليوم الأول لصيستان لديها مستوى منخفض أو ليس لديها MDA باستخدام عترات لقاحات مضعفة متوازنة أو مقواة للـ IBD يشكل خطراً كبيراً كونه يؤدي لتشريع مناعي شديد نتيجة التدمير الشديد للجراب، وعلى عكس ما سبق إن عدم قدرة فيروس اللقاح على معادلة MDA بشكل كامل يؤدي إلى فشل في تناول الفيروس في جراب فايروسوس وهذا يؤدي إلى عدم القدرة على تشكيك أصناد نوعية (Hair-Bejo et al., 2004).

إن وقت التحصين، ونوع اللقاح، والأضداد الأممية عند الصيغان، 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 الجمورو عند الكتاكيت الناتجة عن أمهات كبيرة السن.
- 2- تقييم مصلي للتدخلات بين المناعة الأمية ولقاحات الجمورو المعطاة بعمر مبكر.
- 3- إعطاء لقاحات الجمورو 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 120 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 التحصين (55 أسبوع).

تم تربيتها لمدة 42 يوم في مجموعات منفصلة، مع مراعاة شروط التربية الصحية والحرز 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 plus vaccines ولقاحات مقواة Intermediate vaccines كما يلى:

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

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

مع التنوية إلى أن كل المجموعات لم تحصل بأى لقاح ضد أي مرض آخر عدا لقاح الجمورو حسب النوع والموعود المحدد في التجربة.

طرق Methods

كان عدد عند بداية التجربة 120 صوص في اليوم الأول من العمر (والتي أخذت من أمهات كبيرة في العمر) قسمت إلى خمس مجموعات (24 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 1 :

الجدول رقم 1: يوضح موعد التحصين ونوع اللقاح المستخدم

| العمر | نوع اللقاح | المجموعة |
|--------|-------------------------|----------|
| 7 أيام | Intermediate متوسط | G |
| 14 يوم | Intermediate plus مقواة | H |
| 21 يوم | Intermediate متوسط | J |
| 21 يوم | Intermediate plus مقواة | K |
| - | شاهد سلبي | L |

- العينات :Samples

عينات الدم Blood Samples

جمعت 10 عينات دم على الأقل عن طريق الوريد الوداجي للطيور من كل مجموعة اعتباراً من اليوم الأول ومن ثم كل 7 أيام وذلك في الأعمار التالية: 1 ، 7 ، 14 ، 21 ، 28 ، 35 ، 42 يوم.

وذلك لتبني مستويات المناعة الأمية والمناعة المشكّلة نتيجة إعطاء اللقاح.

وضعت عينات الدم في أنابيب معقمة بشكل مائل على سطح مستوى تسريع عملية تجلط الدم والمساعدة في انفصال المصل ثم تم تثبيط العينات بسرعة 2000 د/د لمدة 10 دقائق.

حفظت عينات المصل بعد توزيعها إلى أحجام صغيرة بدرجة حرارة 20-20 درجة مئوية لتنتمي معايرة الأجسام المناعية المضادة لاحقاً.

طريقة التحصين Vaccination:

أعطي اللقاح عن طريق التقطير بالأتف حيث تمت إذابة محتويات عبوة اللقاح المجدف بالمذنب الخاص به وذلك حسب تعليمات الشركة المصنعة

التقنيات المخبرية :Laboratory Techniques

:Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

استخدم اختبار الإليزا غير المباشرة للكشف عن مستوى الأضداد الموجودة في مصل دم الطيور (Marquardt *et al.*, 1980; Rosenberger, 1989; IDEXX, 2008) وذلك باستخدام مجموعات تشخيصية من شركة IDEXX الأمريكية (Serial No.:09260-EE206).

وتتألف المجموعة التشخيصية الواحدة لاختبار الإلiza غير المباشرة من:

- أطباق مطلية من الداخل بمستضد IBD antigen coated microtiter plate/ IBD
- الشاهد الإيجابي (IBD positive control) .Diluted chicken Anti-IBD preserved with sodiumazid
- الشاهد السلبي Negative controle .
- محلول الاقتران المرتبط بالأنزيم (Goat) Anti-Chicken :Horseradish Peroxidase Conjugate
- محلول التمدد 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 pinte tips
- جهاز قارئ الإليزا للطبق ذو 96 حفرة 96-well plate reader (BIO-TEK INSTRUMENT, INC) و (Serial No. 186696)
- أنابيب لتخفيض العينات Tubes for diluting samples
- ماء منزوع الشوارد لإجراء عملية غسل الحفر.
- مؤقت زمني Lab times
- بيشر 100 مل ملئ بالماء المقطر لتحرير الماصات Graduated cylinder 100ml
- كمبيوتر مع برنامج IDEXX(version xChex3.3) لتحويل قراءة الكثافة البصرية إلى معيار الأضداد Software program

تحضير عينات المصل للاختبار Preparation serum samples

تم تمديد العينات بنسبة (1/500) حيث تم مزج عينة المصل جيداً وأخذ منه 1 ميكروليتر وأضيف إليه 500 ميكروليتر من محلول التمدد Dilution Buffer ومزجت جيداً قبل توزيعها على أطباق الإليزا.

طريقة العمل:

وضع الكواشف بدرجة حرارة الغرفة (20°-27° م) ومزجت جيداً قبل الاستخدام.

1- وضعت 100 ميكرو ليتر من الشاهد السلبي غير الممدد في كل من الحفر A1 و A2.

2- أضيف 100 ميكرو ليتر من الشاهد الإيجابي غير الممدد في كل من الحفر A3 و A4.

3- أضيف 100 ميكرو ليتر من عينات المصل التي تم تمديدها إلى الحفر المخصصة لها.

4- حضن الطبق لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة.

5- تم التخلص من محتويات الحفر وغسلت محتويات الحفر بمقدار 300 ميكرو ليتر من الماء المقطر لكل حفرة وكررت العملية ثلاثة مرات.

6- وزعت 100 ميكرو ليتر من Conjugate لكل الحفر بما فيها حفر الشاهد الإيجابي والسلبي.

7- كررت الخطوات 4 و 5 مرة أخرى.

8- وزعت 100 ميكرو ليتر من محلول الركيزة TMB Substrate لجميع الحفر.

9- حضن الطبق بدرجة حرارة الغرفة لمدة 15 دقيقة ابتداءً من لحظة إضافة IBD Substrate إلى الصف الأول للطبق.

10- أضيفت 100 ميكرو ليتر من محلول إيقاف التفاعل Stop Solution إلى كل الحفر.

11- تمت معايرة جهاز قارئ أطباق الإليزا (BIO-TEK) بواسطة الهواء Blank reader with air

12- قراءة النتائج على موجة طولها 650 نانومتر (650 nm).

تقييم النتائج:

يعطي اختبار ELISA لون تناسب شدته مع معيار الأضداد النوعية للـ IBD والموجودة في عينة المصل المختبرة، ويعبر عن ذلك بقياس شدة اللون بواسطة جهاز قارئ الأطباق (Micro plate reader) (O.D) ويعبر عن ذلك بوحدة الكثافة البصرية Optical Density (O.D) ليتم إدخالها إلى الحاسوب حيث يقارن الحاسوب 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 (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 انتصاصية الشاهد السلبي أقل من (0.150).

و عندما تكون قيمة التناسب S/P للعينة المختبرة أقل أو يساوي (0.20) تعتبر العينة سلبية، وعندما تكون قيمة تتناسب S/P للعينة المختبرة أكبر من

(0.20) (معيار الأضداد أكبر من 396) تعتبر العينة إيجابية وتشير للتحصين أو تعرض القطاع للعدوى بمرض 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})

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

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

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

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

النتائج RESULTS

كانت معايير الأضداد للمجموعات كما هو موضح في الجدول رقم (2).
جدول رقم 2: يوضح نتائج معايير الأضداد للمجموعات خلال التجربة

| ELISA titer (Mean±SD) | | | | | العمر بال أيام |
|-----------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| 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 | 1 |
| 1189.7±192.06 ns | 1182± 291.28 ns | 1979.3±205.46 ns | 1522±204.53 ns | 1881.8± 271.69 ns | 7 |
| 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 | 14 |
| 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 | 21 |
| 37.54± 36.54b | 84.7± 62.47b | 1± 0 b | 1239± 226.44 a | 1± 0 b | 28 |
| 1± 0b | 1579.4± 174.44 a | 1387.8± 256.50 a | 938.8± 192.19 a | 1± 0b | 35 |
| 1± 0c | 1717.4± 312.85a | 1027.3± 112.79 b | 1388± 173.10 ab | 1± 0 c | 42 |

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 أي فروق معنوية فيما بينها ولم يلاحظ أيضاً وجود فروق معنوية في النتائج بين المجموعة G (والتي أعطيت لفاح متوسط في اليوم السابع من العمر) ومجموعة الشاهد السلبي L طيلة فترة التجربة.

المجموعة H والتي أعطيت لفاح مقوى في اليوم 14 من العمر لوحظ وجود ارتفاع معنوي في معيار الأضداد في اليوم 42 مقارنة بمجموعة الشاهد السلبي.

المجموعة J والتي أعطيت لفاح متوسط في اليوم 21 من العمر لوحظ أيضاً ارتفاع معنوي في معيار الأضداد في اليوم 42 من العمر مقارنة بمجموعة الشاهد السلبي وقد كان هذا الارتفاع أعلى مما هو في المجموعة H.

المجموعة K والتي أعطيت لفاح مقوى في اليوم 21 من العمر لوحظ أيضاً ارتفاع معنوي في معيار الأضداد في اليوم 42 من العمر مقارنة بمجموعة الشاهد السلبي وقد كان هذا الارتفاع أعلى مما هو في المجموعتين H و J .

الاستنتاجات:

عند استخدام اللقاحات بشكل مبكر فإنها تتدخل مع المناعة الأئمية وتضعف الاستجابة المناعية، وعلى الرغم من أن عمر الأئمات التي أخذت منها الصيصان منقم (بعمر 55 أسبوع) إلا أنه كان معيار الأضداد النوعية عندها مرتفع، وقد أثر إعطاء اللقاح البكر للصيصان (في اليوم السادس من العمر) بشكل سلبي ولم يفلح التحصين في التحفيز على تشكيل الأضداد وكما أن التحصين في اليوم 21 من العمر بلقاح متوسط أو لقاح مقوى أدى إلى تشكيل رد فعل إيجابي في تشكيل 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 14 في التجربة فقد أدى إلى تشكيل مستوى مرتفع من الأجسام المناعية ، وبمقارنة معيار الأضداد في نهاية فترة التجربة بين اللقاح (المتوسط والمقوى) المعطى في اليوم 21 من العمر نجد أن اللقاح المقوى يحفز لاستجابة مناعية أعلى إلا أنه قد يؤدي لتدمير أشد في أنسجة الجراثيم 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 الأئمية منخفض ومتجانس .

**المراجع
REFERENCES**

- عبد العزيز، فهيم. 1996. دراسة الواقع الوبياني لمرض التهاب جراب فابريشيوس في مزارع رعاية الفروج. مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث – سلسلة العلوم الزراعية – المجلد (18) – العدد (6).
- Benton, W.J.; Cover, M.S. 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.; 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. (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's Poult.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 identification 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. Elsivier publishing company. Philadelphia. 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.