# دراسة مقارنة للتغيرات المرضية النسجية المصاحبة لاعطاء خمسة انواع من لقاحات مرض كمبورو

بلقيس حسن علي عماد جواد خماس
كلية الطب البيطري /جامعة بغداد

## الخلاصة

استخدم ٢٠٤ فرخ دجاج لحم قسمت الى ستة مجاميع اعطيت كل مجموعة احد اللقاحات المستخدمة وكما يلي (G1) BUR-706 و (G2) IBD-L و( G3) TAD و ( G4) CH/80 و( G5)D78 ومجموعة السيطرة ( G6) لم تعامل باي معاملة. تم اجراء الفحص النسجي للاعضاء اللمفاوية وهي جراب فابريشيا والطحال والتوثة وغدة هاردر واللوز الاعورية وكذلك حساب درجة الافات النسجية لجراب فابريشيا وايضا ايجاد نسبة اعداد الخلايا التي تمر بحالة الموت المبرمج ( Apoptosis ) وذلك باستخدام صبغة Ag-NOR silver nitrate stain. اظهرت نتائج الفحص النسجي للاعضاء اللمفاوية وخصوصا جراب فابريشيا بعد 24 ساعة من التلقيح وجود افات نسجية والتي اشتملت على الوذمة بين الجريبات ونفاد الخلايا اللمفية في الجريبات والنزف والاحتقان مع نضوب الخلايا اللمفية في الاعضاء اللمفية الاخرى.(الطحال والتوثة وغدة هاردر واللوز الاعورية). اما درجة الافات النسجية ( BLS) Bursal Lesion Score)قد سجلت اختفاء التأثير السلبي للقاح مع مرور الوقت. أجري فحص موت الخلايا المبرمج على المجموعتين الاولى والثانية وهما المجموعتين الاقل تأثرا باللقاحات وأظهرت نتيجة الفحص وجود ارتفاع معنوي بنسبة اعداد الخلايا التي تمر بحالة الموت المبرمج.

## المقدمة

يعد مرض كمبورو من الامراض الفايروسية الحادة عالية الوبائية حيث يصيب الافراخ الصغيرة العمر والتي تتراوح اعمارها ما بين ٣-٦ اسابيع (١)، حيث يسبب خسائر اقتصادية كبيرة في صناعة الدواجن (٢) ، ويسبب هلاكات عالية تصل الى اكثر من (٢٣%) في الافراخ المصابة (٣) اضافة الى قلة استهلاك العلف ونقص معدل وزن الطير و اسهال مائي مع نكاز شديد (٤).ويلاحظ تلف شديد للاعضاء اللمفية وخاصة جراب فابريشيا حيث يؤدي الى استنفاذ خلايا B اللمفية من الجراب بسبب حالة النخر الشديد التي تعد السبب الرئيسي في حدوث الكبت المناعي (٥ و٦). ويعتبر التلقيح الطريقة المثلى في السيطرة على المرض(٢). اللقاحات الحية لمرض كمبورو قسمت الى لقاحات خفيفة الضراوة ولقاحات متوسطة الضراوة ولقاحات عالية الضراوة (٧) والتي تساعد على التقليل من حدوث المرض من خلال تحسين الاداء العام للطيور ورفع مستوى الاستجابة المناعية ضد المسبب المرضي (٨). وقد تم انتاج العديد من اللقاحات التجارية لمرض كمبورو من قبل شركات عديدة في دول العالم وأجريت العديد من الدراسات حول تلك اللقاحات لغرض تقسيمها وتصنيفها حسب تأثيرها على الافراخ الملقحة على انها خفيفة او متوسطة أو شديدة الضراوة. وقد استخدم العديد من اللقاحات التجارية على المستوى المحلي وكان تأثيرها مختلف على الدجاج لذلك هدفت هذه التجربة الى معرفة التأثير السلبي لبعض اللقاحات المستخدمة محليا على الانسجة اللمفية لافراخ اللحم ومحاولة تمييز نوع اللقاح الذي من الممكن اعتماده بأقل تأثير سلبي على الانسجة اللمفية للافراخ الملقحة.

## المواد وطرائق العمل

استخدم خمسة لقاحات حية تجارية ومن مناشيء مختلفة وهي: BUR-706 للمجموعة الاولى و IBD-L للمجموعة الثانية و TAD للمجموعة الثالثة و CH/80 للمجموعة الرابعة و D78 للمجموعة الخامسة ، واستعملت هذه اللقاحات حسب تعليمات الشركة المنتجة حيث تم حلّها بالماء المقطر وجرعت الأفراخ عن طريق الحوصلة.استخدم لقاح مرض نيوكاسل نوع (TAD ND Vac) عترة (HB1) حيث احل اللقاح بالماء المقطر وأعطي عن طريق التجريع للحوصلة.تم تربية الأفراخ وإجراء التجربة في وحدة تجارب فرع الأمراض والدواجن في كلية الطب البيطري- جامعة بغداد.استخدم (٢٠٤) فرخ لحم نوع هابرد وبعمر يوم واحد وقسمت الى ستة مجاميع احتوت كل مجموعة (34) فرخا.جمعت عينات دم وبعمر يومين من الافراخ لتحديد موعد التلقيح اعتمادا على فحص الاليزا ، فقد حدد يوم (16) من عمر الافراخ للتلقيح ضد مرض كمبورو وبعد ثلاثة ايام لقحت الافراخ ضد مرض نيوكاسل. جمعت عينات من جراب فابريشيا بعد( 24 و 48و72)ساعة من التلقيح بلقاح مرض كمبورو ولكل مجموعة لغرض اجراء فحص الموت المبرمج Apoptosis باستخدام صبغة Ag-NOR silver nitrate stain لتحديد بداية تأثير فايروس اللقاح على خلايا جراب فابريشيا وخاصة التغيرات التي تحدث في النواة، وتم اخذ عينات من جراب فابريشيا والطحال والتوثة وغدة هاردر واللوز الاعورية وذلك بعد (24 و 48 و 72 و 96 و 120) ساعة من التلقيح بلقاح مرض كمبورو لغرض الفحص النسجي وقد تم جمع نموذجين من كل



البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الاول

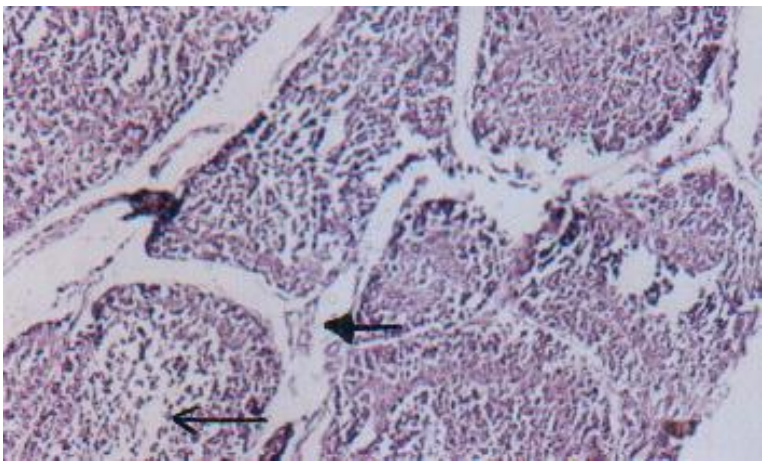
عضو لكل فترة زمنية.تم تحضير الشرائح النسجية حسب الطريقة التقليدية المتبعة Thorton and Pattison (9)، أما حساب درجة الافات النسجية لجراب فابريشيا (BLS) فتكون من 0–5 درجات وكل درجة تعطي نسبة مئوية للانحلال ونفاد الخلايا اللمفية وحسب طريقة Schroder وجماعته (10) وعلى النحو التالي: 0= لايوجد تلف، 1= 1-20% تلف، 2= 21-40% تلف، 3= 41-60% تلف، 4= 61-80% تلف، 5= 81-100% نفاد الخلايا اللمفية. واستخدمت صبغة نترات الفضة لصبغ النوية ( Argyrophilic Nucleolar Organizer Region) Ag-NOR وهي احد الطرق الدقيقة للكيمياء النسجية لغرض تشخيص التغيرات الابتدائية التي تحدث في خلايا جراب فابريشيا وخصوصا النواة نتيجة للتأثير السلبي للفايروس اللقاحي على خلايا الجراب والتي تشير بدورها الى حصول حالة موت الخلايا المبرج في خلايا الجراب، وتم صبغ الشرائح حسب طريقة Ploton وجماعته (11). أما طريقة عد الخلايا الحاوية على نقاط (dots) والتي تصطبغ بالفضة وايجاد النسبة المئوية لها حسب طريقة Crocker وجماعته (12). استخدم مربع كاي الاحصائي للمقارنة بين نتائج الموت المبرمج للمجاميع، وعدت قيمة P معنوية عندما كانت متساوية او اصغر من قيم 0o5-0 او 0-01 (13).

## النتائج

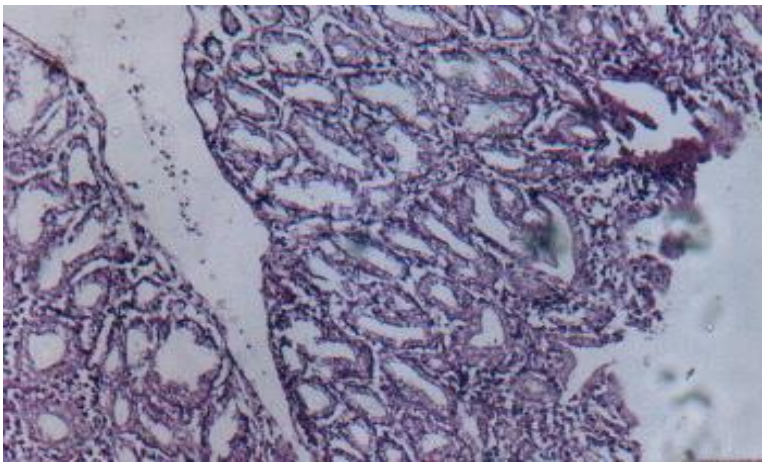
بعد 24 ساعة من التلقيح بلقاح كمبورو لوحظ قي المجموعة الاولى نضوب بسيط للخلايا اللمفية في الجريبات اللمفية مع وجود نضحة بين الجريبات (صورة 1)، كما لوحظ التهاب بسيط في غدة هاردر بوجود نزف قليل واعداد قليلة من الخلايا اللمفية (صورة 2) ، ولوحظ في المجموعة 2 نضوب قليل للخلايا اللمفية في لب جراب فابريشيا مع وذمة بسيطة بين الجريبات وبلغت نسبة التلف 5% (score=1) ووجد تخلل وارتشاح شديد للخلايا اللمفية في لطخات باير واللوز الاعورية (صورة 3). وفي المجموعة الثالثة G3 لوحظ نفاد كبير للخلايا اللمفية في لب جراب فابريشيا مع وذمة بسيطة حيث بلغت نسبة التلف 10% (score=1) (صورة 4) ولوحظ بعض خلايا الدم الحمر في انسجة الطحال والتوثة وارتشاح كبير للخلايا اللمفية في الامعاء. أما المجموعة الرابعة G4 فكانت نسبة التلف فيها 5% (score 1 ) بوجود نفاد بسيط للخلايا اللمفية مع وذمة بسيطة. لوحظ التهاب غدة هاردر في المجموعة الخامسة G5 بوجود الخلايا الحمر والخلايا الالتهابية مع نضوب شديد للخلايا اللمفية في لب جراب فابريشيا مع وذمة بين الجريبات وبلغت نسبة التلف 50% (score 3) (صورة 5) مع احتقان شديد في الطحال وارتشاح الخلايا اللمفية في لوز الاعورين ولطخات باير. أما الطحال والتوثة وغدة هاردر واللوز الاعورية ولطخات باير فكانت طبيعية بعد مرور 48 و 72 و 96 و 120 ساعة بعد التلقيح (جدول ١ ).ولحساب نسبة اعداد الخلايا التي تمر بحالة الموت المبرمج فقد وجد فرق معنوي ($P<0.01$) وحسب اختبار مربع كاي الاحصائي بين المجموعة الاولى والثانية مقارنة مع مجموعة السيطرة ( G6) . المجموعة الاولى ( G1 ) (لقاح BUR-706) كانت النسبة (85%) حيث شوهدت النقاط (dots) ذات الصبغة الداكنة وهي تدل على الموت المبرمج داخل الانوية (صورة 6). أما المجموعة الثانية (G2) (لقاح IBD-L) فقد كانت النسبة (90%) في حين كانت النسبة منخفضة معنويا في مجموعة السيطرة (G6) وقد بلغت (10%) (صورة 7 ).

جدول 1 : درجات الافات النسجية لجراب فابريشيا بعد التلقيح باللقاحات المختلفة

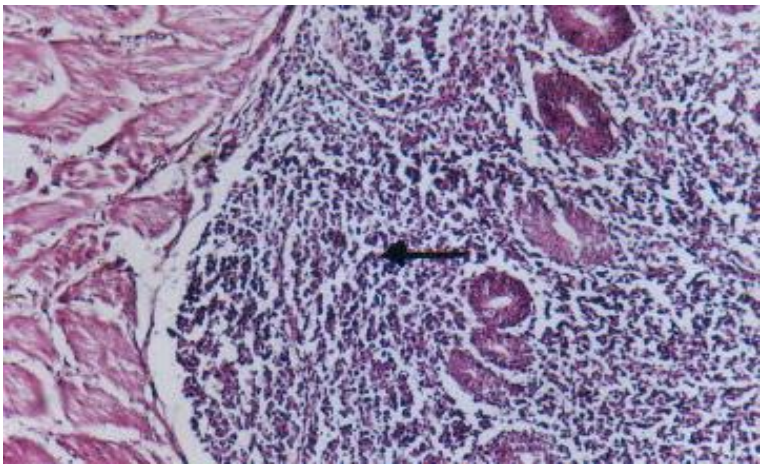
| المجاميع | نوع اللقاح | الوقت بعد التلقيح/ساعة | درجة الافات النسجية | نسبة التلف% | مجموع العينات المتلأثرة بالتلقيح خلال خمسة ايام بعد التلقيح |
|---|---|---|---|---|---|
| G1 | BUR-706 | 24 | 1 | 5% | 5/5 |
| | | 48 | 1 | قل من 5% | |
| | | 72 | 1 | 5% | |
| | | 96 | 1 | 5% | |
| | | 120 | 1 | 5% | |
| G2 | IBD-L | 24 | 1 | 5% | 5/4 |
| | | 48 | 1 | 5% | |
| | | 72 | 1 | 10% | |
| | | 96 | 1 | 5% | |
| | | 120 | 0 | طبيعية | |
| G3 | TAD | 24 | 1 | 10% | 5/5 |
| | | 48 | 1 | 5% | |
| | | 72 | 1 | اقل من 5% اقل | |
| | | 96 | 1 | من 5% | |
| | | 120 | 1 | اقل من 5% | |
| G4 | CH/80 | 24 | 1 | 5% | 5/5 |
| | | 48 | 2 | 25% | |
| | | 72 | 2 | 10% | |
| | | 96 | 1 | 10% | |
| | | 120 | 1 | 5% | |
| G5 | D78 | 24 | 3 | 50% | 5/4 |
| | | 48 | 0 | طبيعية | |
| | | 72 | 1 | 10% | |
| | | 96 | 1 | اقل من 10% | |
| | | 120 | 1 | اقل من 5% | |



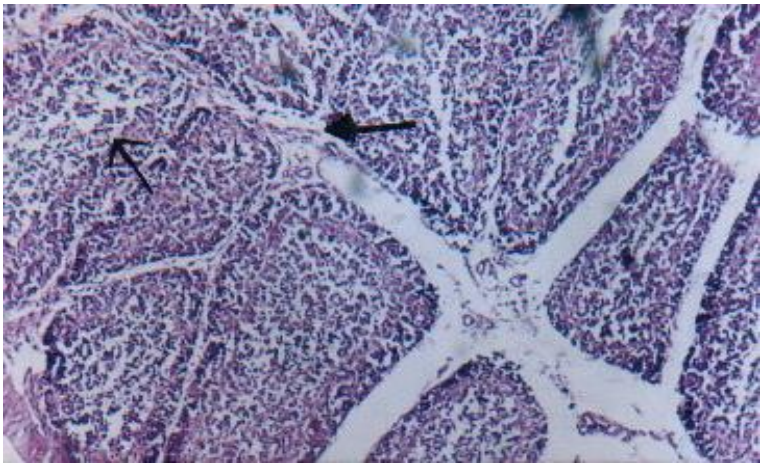
صورة (1) مقطع نسجي في جراب فابريشيا (G1 ) بعد التلقيح باربع وعشرين ساعة يلاحظ فيه وجود نضوب للخلايا اللمفية في الجريبات (سهم) ونضحة بين الجريبات (سهم غامق). صبغةH&E (X100).



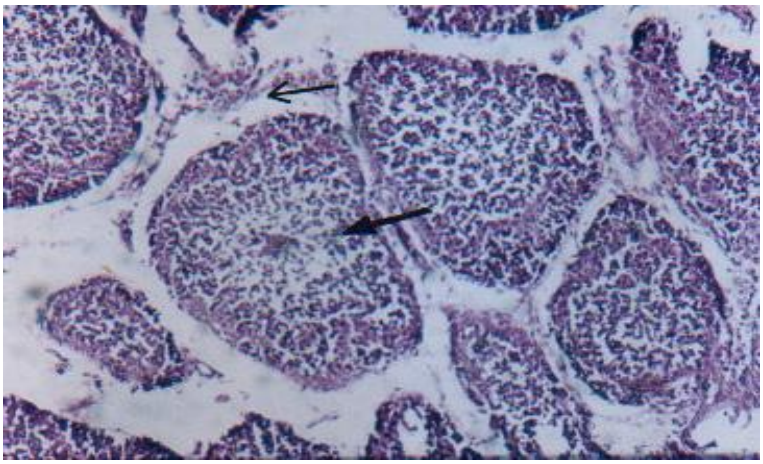
صورة (2) مقطع نسجي في غدة هاردر (G1) بعد التلقيح ب 24 ساعة يلاحظ وجود اعداد قليلة من الخلايا اللمفية. صبغة H&E (X100).



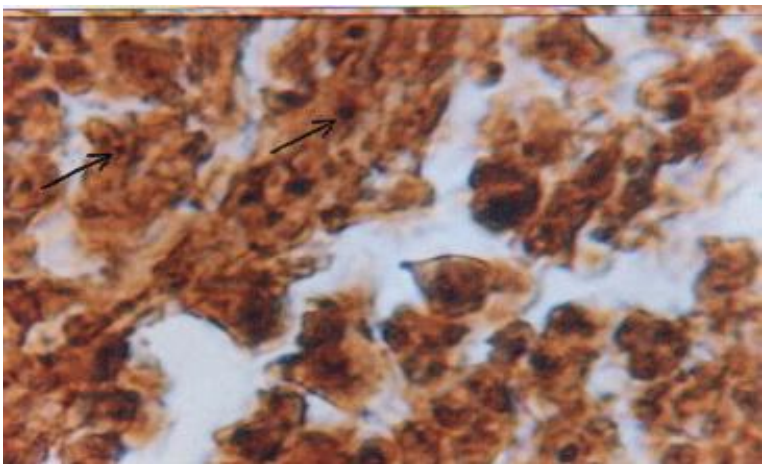
صورة (3) مقطع نسجي في الامعاء (لطخات باير واللوز الاعورية) (G2) بعد 24 ساعة من اللقاح يلاحظ تخلل وارتشاح الخلايا اللمفية (سهم). صبغة H&E (X100).



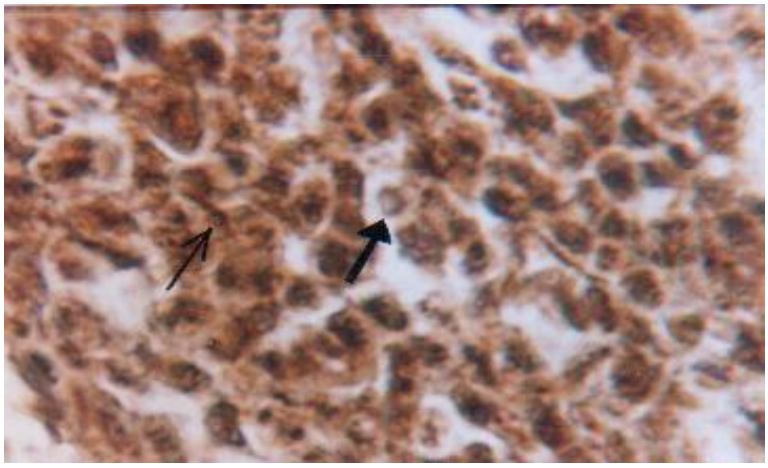
صورة (4) مقطع نسجي لجراب فابريشيا (G3) بعد التلقيح ب 24 ساعة يلاحظ نضوب شديد للخلايا اللمفية في لب الجراب (سهم) ووذمة بسيطة بين الجريبات (سهم غامق). صبغة H&EX100.



صورة (5) مقطع نسجي لجراب فابريشيا (G 5) بعد التلقيح ب 24 ساعة يلاحظ نضوب شديد للخلايا اللمفية في لب الجراب (سهم غامق ) ووذمة بين الجريبات (سهم). صبغة H&EX100.



صورة (6) مقطع نسجي لجراب فابريشيا (G 2) بعد التلقيح ب 24 ساعة يلاحظ الخلايا اللمفية الحاوية على ال dots في النواة والتي تمثل اجزاء الكروماتين (سهم). (الصبغة Ag-NOR silver nitrate ) . X1000.



صورة (7) مقطع نسجي لجراب فابريشيا (G 2) مجموعة السيطرة (G6) يلاحظ شكل الخلايا اللمفية الطبيعي (سهم غامق) والخلايا اللمفية التي تمر بمرحلة الموت المبرمج (سهم). (الصبغة Ag-NOR silver nitrate ) . X1000.

## المناقشة

أشارت نتائج الباحثين (14و15 ) الى وجود تباين كبير بين اللقاحات المراد تقييمها والتي صنفت على اساس انها لقاحات متوسطة الضراوة من قبل الشركات المنتجة حيث قورنت باللقاحات ضعيفة الضراوة وعالية الضراوة من حيث التأثير على جراب فابريشيا فوجد قسم منها مشابها من حيث التأثير على المقاييس المأخوذة والتي من ضمنها الفحص النسجي الى العتر ضعيفة الضراوة مثل ما تبين في هذه الدراسة من تأثير اللقاحات المعطاة للمجموعتين الاولى والثانية G1وG2 وبعضها مشابها الى العتر عالية الضراوة مثل ما شوهد في هذه الدراسة من تأثير اللقاحات المعطاة للمجاميع الثالثة والرابعة والخامسةG3وG4 وG5 . أما التباين الحاصل في المجموعة الخامسة G5 في درجة الافات النسجية وخصوصا بعد التلقيح ب ٤٨ ساعة والتي سجلت صفر (طبيعية) في حين لوحظ تلف نسجي شديد في باقي الاوقات مقارنة بالمجاميع الاخرى فقد يعود السبب الى الاختلافات الفردية في تعامل الطير مع الفايروس اللقاحي، وهذا ما ايده ايضا (16). تباين التأثير النسجي في الاعضاء الاخرى وهي الطحال والتوثة واللوز الاعورية وغدة هاردر من مجموعة الى اخرى حيث يظهر العضو متأثرا في مجموعة ملقحة بينما يظهر طبيعيا في مجموعة ملقحة اخرى ويعزى هذا الى كون العضو الهدف لفايروس مرض كمبورو هو جراب فابريشيا بينما تعد الاعضاء الاخرى اقل تأثرا بفايروس التهاب جراب فابريشيا الخمجي مثل الطحال واللوز الاعورية والتوثة وغدة هاردر (17و18و19) ، وعدم ظهور الافات النسجية في هذه الاعضاء بعد ٤٨ ساعة من التلقيح يؤكد على ان العضو الهدف هو جراب فابريشيا كما ان هذه الاعضاء تشفى من الاصابة بسرعة وهذا ما اكده ايضا (19). أما غدة هاردر فيحدث فيها نضوب بسيط للخلايا البلازمية وبصورة مؤقتة (20). ان قوة تأثير لقاح D78 في المجموعة الخامسة G5 يؤدي الى حدوث النزف وبصورة اقل منها لقاح BUR-706 في المجموعة الاولى G1 على نسيج غدة هاردر.لقد تم استخدام صبغة نترات الفضة للجزء السهل الاصطباغ بالفضة لبروتينات منظم النوية للمجموعتين الاولى والثانية G1وG2 ومقارنتها مع مجموعة السيطرة وذلك للتأكيد على نشاط الفايروس اللقاحي داخل نسيج جراب فابريشيا وبشكله السلبي من خلال حدوث حالة الموت المبرمج للخلايا نتيجة للتلقيح باللقاحات الحية لمرض كمبورو. وقد تم استخدام هذه الصبغة لهتين المجموعتين فقط وذلك بسبب ان التغيرات النسجية وخلال خمسة ايام بعد التلقيح كانت اقل شدة من بقية المجاميع الملقحة الاخرى وخصوصا كان الفرق واضحا بعد التلقيح باربع وعشرين ساعة لذلك صبغت المقاطع النسجية لهذه المجاميع لملاحظة التفاعلات السلبية للفايروسات اللقاحية المستخدمة ضد مرض كمبورو وعلى نسيج جراب فابريشيا من خلال مقارنتها مع مجموعة السيطرة وحساب النسبة المئوية لاعداد الخلايا التي تمر بحالة الموت المبرمج. وبما ان اللقاحات المستخدمة في المجموعتين الاولى والثانية هي لقاحات حية متوسطة الضراوة وان بعض العتر اللقاحية لفايروس مرض كمبورو تسلك سلوك بعض العتر الحقلية للمرض (16) لذلك فان ارتفاع نسبة اعداد الخلايا التي تمر بحالة الموت المبرمج وبصورة معنوية في المجموعة الاولى G1 (85% ) والمجموعة الثانية G2 (٩٠%) مقارنة بمجموعة السيطرة G6 (١٠%) وهذا يدل على مدى تأثير اللقاحات السلبي على خلايا النسيج بالرغم من عدم ظهور افات نسجية شديدة على جراب فابريشيا بهاتين المجموعتين الملقحتين مما يدل على التأثير السلبي المبكر لهذه اللقاحات. بينما كانت النسبة اقل في مجموعة السيطرة عنها في المجموعتين الملقحتين ووجود هذه النسبة امر طبيعي حيث تمر الخلايا اللمفية الغير معلمة وغير الضرورية في الاعضاء اللمفية ومن ضمنها جراب فابريشيا بحالة الموت المبرمج (21و22 ).

## المصادر


1.Kibenge, F.S.B.; Dhillon, A.S. and Russell, R.G.(1988) Growth of serotypes I and II variant strains of infectious bursal disease virus in vero cells. Avian Dis. 32:298-303.

2.Vakharia, V, N.; Snyder, D. B.; Lutticken, D.; Mengelwhereat, S. A. Savage, P, K.; Edwards, G. H. and Goodwin, M. A. (1994). Active and passive protection against variant and classic infectious bursal disease virus strains induced by baculovirus expressed structural proteins. Vaccine 12:452-456.

3.Anjum, A. D.; Sabri, G. S. and Jamshidi, K. (1994). Occurrence, spread and control of infectious bursal disease in Pakistan. International Poult. Con. PP:57-59.

4.Lukert, P. D. and Saif, Y. M. (1991). Infectious bursal disease. In: Diseases of Poultry, Edited by Calnek, B. W.; Barnes, H. J.; Board, C. W.; Reid, W. M. and Yoder, H. W., 9th ed. Iowa state

argyrophilic proteins of nucleolar organizer region at the optical level. Histochemical Jouranl. 18: 5-14.

12. Crocker, J.; Boldy, D. A. R. and Egan, M. J. (1989). How should we count Ag-NORs? Proposal for a standerized approach. J. Pathol. (158): 185-188.

١٣. المحمد ، نعيم ثاني، خاشع محمود الراوي، مؤيد يونس ووليد المراني (١٩٨٦) مبادىء علم الاحصاء – مديرية دار الكتب للطباعة والنشر– جامعة الموصل

14. Mazariegos, L. A.; Lukert, P. D. and Brown, J. (1990). Pathogenicity and immunosuppressive Properties of infectious bursal disease " Intermediate" strains. Avian Dis. 34: 203-208.

15. Kulikova, L.; Jurajda, V. and Juranova, R. (2004). Effects of Infectious Bursal disease vaccination strains on the Immune System of Leghorn Chickens. Acta. Vct. Brno. 73: 205-209

١٦. حسن، صلاح مهدي (١٩٨٦) تقييم بعض اللقاحات التجارية لالتهاب جراب فابريشيا المعدي (مرض كمبورو) في الافراخ. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري – جامعة بغداد

17. Lasher, H. N. and Shane, S. M. (1994). Infectious bursal disease. World's Poult. Sci. 50: 133-166.

18. 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.

19. Lukert, P. D. and Saif, Y. M. (2003). Infectious bursal disease. In: Disease of Poultry, edited by Saif, Y. M.; Barnes, H. J.; Beard, C. W.; Mcdougald, L. R. and Yoder, H. W.; 11th ed., Iowa state University Press, Ames, Iowa, U. S. A. PP. 161-179.

20. Jordan, F. T. W. and Pattison, M. (1999). Poultry Diseases. 4th ed. Printed in the U.K. at the University Press, Ames, Iowa, U. S. A. PP. 648-663.

5.Ratcliffe, M. J. H.; Paramithiotis, E.; Coumidis, A.; sayegh, C.; Demaries, S.; Martinez, O. and Jacobsen, K. A. (1996). The bursa of fabricius and its role in avian B-lymphocyte development. In: Poultry Immunology-Eds. By Davison, T. F.; Morris, T. R. and Payne, L. N. 1st . ed.; Oxford, U. K. PP. 11-30.

6.Van den Berg, T. P. (2000). Acute infectious bursal disease in poultry: Areview. Avian pathol. 29:175-194.

7.Michele Guittet, N.; Eterradossi, H.; Lecoq, J. P., Lecoq, H. and Picault, J. P. (1994). Quality control of infectious bursal disease vaccines. Proceeding of second international symposium on infectious bursal disease (IBD) and Chicken Infectious Anemia (CIA). Rauischholzhausen Germany. 162-170.

8.Ahmed, Z.; Inayat, S.; Naeem, K. and Malik, S. A. (2003). Comparative immune response pattern of commercial infectious bursal disease vaccines against filed isolates in pakistan. International. J. of Poult. Sci. 2(6): 449-453.

9.Thornton, D. H. and Pattison, M. (1975). Comparison of vaccines against infectious bursal disease. J. Comp. Path. 85:597-610.

10. Schroder, A.; Vanloon, A. A. W. M.; Goovaerts, D. and Mundt, E. (2000). Chimeras in noncoding regions between serotypes I and II of segment A of infectious bursal disease virus are viable and show pathogenic phenotype in chickens. J. of General. Virol. 81: 533-540.

11. Ploton, D.; Menager, M.; Jeannesson, P. and et. al. (1986). Improvement in the staining and in the visualization of the

university Press, Cambridge. P.P. 199-203.
21. Paramithiotis, E.; Jacobsen, K. A. and Ratcliff, M. J. H. (1995). Loss of surface immunoglobulin expression precedes B-- cell death by apoptosis in the bursa of fabricius. J. of Experi. Med. 181: 105-113.
22. Ratcliffe, M. J. H.; Paramithiotis, E.; Coumidis, A.; sayegh, C.; Demaries, S.; Martinez, O. and Jacobsen, K. A. (1996). The bursa of fabricius and its role in avian B-lymphocyte development. In: Poultry Immunology-Eds. By Davison, T. F.; Morris, T. R. and Payne, L. N. 1st . ed.; Oxford, U. K. PP. 11-30.

# Comparative study of histopathologic changes associated with administration of five different Gumboro disease vaccines

B.H. Ali E. J. Khammas
Coll. of Vet. Med./ Univ. of Baghdad

## Abstract

Two hundred and four broiler chicks have were divided into six groups, each group inoculated a vaccine as follows: (G1) BUR-706, (G2) IBD-L, (G3) TAD, (G4) CH/80, (G5)D78 and (G6) considered as control group without any treatment. Histopathologic examination was carried out on Bursa of Fabricius (BF), spleen, thymus, Harderian's gland and cecal tonsils. Score lesions of BF were determined and Apoptosis score of cells was estimated using Ag-NOR silver nitrate stain. The pathological changes observed 24 hours post vaccination were interfollicular edema in the BF with depletion of lymphocytes in the follicles and congestion hemorrhage, also, depletion of lymphocytes in spleen, thymus, Harderian's gland and cecal tonsils. Bursal lesion scores (BLS) showed disappearance of negative impact of the vaccine gradually. Apoptosis test was done on the less affected groups (G1 and G2) showed significant increase in the cells.