التقويم الحقلي للقاح ثنائي مقتول لمرضي التهاب القصبات المعدي ونيوكاسل المحضر محلياً من عتر معزولة من دجاج اللحم في العراق

ميادة جواد كاظم* عبدالامير حسين زاهد** مشتاق طالب عبدالواحد**
صلاح فاضل عباس* امين عجيل داود*

الملخص

هدفت الدراسة الى تقويم اللقاح الزيتي الثنائي المقتول المحضر لاول مرة في العراق من عتر عزلت محلياً ضد مرضي التهاب القصبات المعدي ونيوكاسل. تم استخدام 5000، 4500، 6000 و4500 فرخ موزعة في اربعة حقول من مناطق مختلفة من البلاد وهي بغداد/التاجي 1، بغداد/التاجي2، كربلاء المقدسة وواسط على التوالي التي سبق ان حدثت بها اصابات شديدة بهذه الامراض، تمت متابعة الافراخ الملقحة من عمر يوم واحد وحتى عمر 35 يوماً، اذ تم اخذ عينات دم من الافراخ الملقحة باللقاح الثنائي الزيتي المحلي والاخرى التي لقحت باللقاح الثنائي الزيتي التجاري في 7، 14، 21، 28 و35 يوماً من عمر الافراخ.

اظهرت نتائج تقويم اللقاح باستخدام فحص الامتزاز المناعي غير المباشر (ELISA) الى وجود فروق معنوية ($p \leq 0.05$) في الاستجابة المناعية للحقول التي تم تلقيحها باللقاح الثنائي المقتول المحلي (اللقاح التجريبي) فسجلت النتائج ارتفاعاً معنوياً في الاضداد الموجهة ضد مرضي نيوكاسل والتهاب القصبات المعدي (كلاً على حدة) في امصال افراخ القاعات الملقحة باللقاح الثنائي الزيتي المحلي التجريبي IB وND مقارنة مع افراخ القاعات الملقحة باللقاح الثنائي الزيتي التجاري في 21، 28 و35 يوماً من عمر الافراخ.

المقدمة

يُعدُّ مرض التهاب القصبات المعدي من الامراض الفايروسية الشديدة الوبائية التي تؤثر في الدجاج بالاعمار جميعها وخصوصاً الاعمار الصغيرة متميزاً باعراض تنفسية حادة ومسبباً نسب نفوق تصل لحوالي (1). ويسبب المرض في الدجاج البياض انخفاضاً في إنتاج البيض وتدهوراً في جودته وشكله فضلاً عن انخفاض في نسبة الفقس (2). مرض التهاب القصبات المعدي سببه فيروس ينتمي لعائلة الفيروسات التاجية (*Corona viridea*) مدة حضانة المرض قصيرة تتراوح من 18 الى 36 ساعة ومدة المرض من 2 الى 5 أيام (3)، تبقى الطيور المصابة حاملة للفيروس ،وتطرحه لمدة 5 اسابيع بعد العدوى عن طريق الفضلات وافرازات الانف (4). ان إمكان حدوث الطفرات في الشفرات الموروثة ببروتين النتوءات (Spike) الفيروسية ينتج عن ذلك اختلافات لمستضدات الفيروس مما يعقد إمكان التشخيص والقدرة على منع انتشار المرض (5).

ان استخدام اللقاحات الخاصة بمرض التهاب القصبات المعدي كانت سابقاً تعمل بكفاءة جيدة للسيطرة على عدوى الفايروس الا انه مازال يمثل عقبة في تطور صناعة الدواجن وذلك لقدرته على تكوين عتر جديدة، الامر الذي يفسر وجود انواع مختلفة في مناطق مختلفة من العالم وأخرى متماثلة في كثير من المناطق (6).

كما يُعدَ مرض نيوكاسل من الامراض الوبائية الخطرة التي تصيب انواع الطيور جميعها وبصورة خاصة الدجاج. وقد تسبب المرض بظهور كثير من الاوبئة في مناطق كثيرة من العالم وألحق خسائراً اقتصادية كبيرة في قطاع انتاج الدواجن، كما ويُعدَ مرض نيوكاسل من الامراض المشتركة التي تصيب الانسان من خلال التلامس المباشر مع الطيور المصابة (7).

* دائرة البيطرة، وزارة الزراعة، بغداد، العراق.
**كلية الطب البيطري، جامعة بغداد، بغداد، العراق.

فيروس نيوكاسل من عائلة البارامكسوفايريدي ***Paramyxovirdea***، وعزلت العديد من العتر وشخصت وصنفت اعتماداً على الضراوة الى عتر ضارية ،عتر متوسطة الضراوة والضعيفة الضراوة (8) مما تطلب الامر السيطرة والوقاية على هذين المرضين وان افضل وسيلة هي التحصين الدوري باللقاحات الحية او اللقاحات المقتولة (9) ومن الافضل التمنيع بلقاحات محضرة من العتر المحلية نفسها المسببة لمرضي التهاب القصبات المعدي ونيوكاسل بعد عزلها وتحصين القطعان بهذا اللقاح لضمان الحماية الأفضل (10).

يُعدَ التحصين خط الدفاع الثاني بعد المعقمات، والتلقيح أحد أهم طرق تحقيق الامن الحيوي في مشاريع الدواجن، وهي عملية أساس لا يمكن الاستغناء عنها، إذ ان هذه العملية تتم لحماية قطعان الدواجن من اخطر الامراض التي يستعصي علاجها بالطرق التقليدية (11). ويُعدَ التحصين في الدواجن ضد الامراض الخطرة من افضل الوسائل الفعالة لحمايتها من الإصابة ،إذ توجد انواع مختلفة من اللقاحات منها الحية واخرى المبطلة والهدف منها في الحالتين هو تحفيز الجهاز المناعي في جسم الطائر على تكوين الاجسام المضادة ضد المسببات المرضية الفيروسية بشكل خاص وبقية الجراثيم والبكتريا بشكل عام (12).

بالرغم من ان التلقيح الوقائي (باللقاحات الحية والمبطلة) معتمد في العديد من مشاريع انتاج الدواجن إلاَ ان مرض التهاب القصبات المعدي ومرض نيوكاسل مايزالان يمثلان تهديداً وتحدياً مباشراً للعملية الانتاجية في هذا القطاع المهم (13) كما ان هذه الامراض تسبب مشاكلاً تنفسية كبيرة في افراخ اللحم وقلة في انتاج البيض في قطعان الامهات ودجاج البياض (14). وقد اكد الكثير من الباحثين وجود مئات الأنواع العتر المصلية من فيروس التهاب القصبات المعدي وان العدد بارتفاع مستمر وذلك لظهور عتر جديدة مع مرور الوقت بسبب ميله للتغيير والانحراف (في تركيبتة الانتجينية) وبالتالي ظهور عترات جديدة سواء أكانت حقلية أم لقاحية تختلف في اعراضها وامراضيتها واَفاتها عن العترات السابقة (15). لذلك استوجب البدء بتطوير وسائل واساليب جديدة لمكافحة تلك المستجدات واتخاذ قرارات جديدة .لذا كان هدف هذه الدراسة هو تقويم لقاح ثنائي مقتول (تجريبي) محضر محلياً باستخدام عتر معزولة من إصابات لمرضي التهاب القصبات المعدي IB ونيوكاسل ND المعزولة من دجاج اللحم ولاول مرة في العراق.

المواد وطرق البحث

تم تقويم اللقاح المحضر والمنتج في مختبرات دائرة البيطرة قسم الرقابة الدوائية والاحيائية الذي حصل على براءة اختراع رقم 4352 في 2015/10/28 في عدد من الحقول المحلية والموزعة في اكثر من مكان في انحاء البلاد،إذ كان العمل في هذا البحث بمرحلتين: المرحلة الاولى تمثلت بتحضير وانتاج اللقاح التجريبي في ظروف مختبريه قياسية وحسب توصيات البروتوكول العالمي OIE (16)، إذ تم جلب 1500 بيضة مخصبة خالية من التلوث (Specific Pathogen Free) للبدء بمراحل التحضير للقاح الثنائي المقتول التجريبي. فيتم حضن البيض بحاضنات مجهزة لهذا الغرض في وحدة تقويم اللقاحات الفايروسية / قسم الرقابة الدوائية والاحيائية. تم حقن البيض المجنن بعمر 10 أيام لتمرير العتر الفايروسية المعزولة محلياً AG68 الخاصة بمرض نيوكاسل وعترتي (QX و2 Variant) الخاصة بمرض التهاب القصبات المعدي والمطابقة الى العتر الامريكية والاوربية وبنسبتين 95 و97% على التوالي حسب مختبرات وايبرج في بريطانيا التي تم الحصول عليها من قسم المختبرات والبحوث /دائرة البيطرة لغرض تكثير تلك العتر المذكورة اَنفاً ومعايرتها وحساب نصف الجرعة المخمجة Embryo Infected Dose 50 (EID 50) لكل من فايروسات التهاب القصبات المعدي IB ونيوكاسل ND. ثم تم إبطال فعالية الفايروسات باستخدام الفورمالين بتركيز 40% بنسبة 1: 1000 (0.1%) بعد تخفيف الفورمالين الى 10%، ثم

تمت إضافة 1 مل من الفورمالين المخفف وبشكل قطرات لكل 100 مل من السوائل الجنينية الحاوية على الفايروسات وكلاً على حده وحسب ماشار اليه Palaya (17) .

تم البدء بانتاج التركيبة اللقاحية بعد تحضير 6000 مل من السائل اللقاحي الثنائي المبطل وخلطه مع كمية مساوية من المادة المساعدة الزيتية Incomplete Freund's Adjuvant (IFA) للحصول على 12000 مل من اللقاح الثنائي التجريبي، وتمت تعبئته بقناني سعة 100 مل.

تم الشروع بإجراء المرحلة الثانية التي تمثلت باستخدام اللقاح التجريبي على مجموعة من قاعات الدواجن متوزعة في مناطق متفرقة من البلاد، فشملت التجربة اربع قاعات في المحافظات (بغداد (التاجي 1 والتاجي 2) وكربلاء المقدسة وواسط (الصويرة)، إذ تمت المعاينة الاولية لتلك القاعات ومدى جاهزيتها للقيام بالتجربة الخاصة باللقاح وبواقع (4500 الى 6000) فرخ لفروج اللحم لكل قاعة ومقارنتها بقاعات في الحقول نفسها المذكورة انفاً التي عدت كقاعات سيطرة. تم تلقيح الافراخ كافة (في كل من قاعات المعاملة والسيطرة) بلقاح حي مضعف ثنائي IB ND بطريقة الرش بعمر يوم واحد ثم لقحت افراخ القاعات المخصصة لتقويم اللقاح الزيتي التجريبي بعمر 7 أيام بجرعة 0.5 مل تحت الجلد. اما قاعات السيطرة فقد لقحت بالاعمارنفسها باللقاحات الزيتية التجارية. تم إجراء فحص اختبار الانزيم المناعي الممتز غير المباشر ELISA Test للكشف عن الإستجابة المناعية ضد فيروسات التهاب القصبات المعدي ونيوكاسل في 7 ,14 ,21 ,28 و 35 يوماً من عمر الأفراخ.

النتائج والمناقشة

نتائج اختبار الاليزا لاضداد مرضي التهاب القصبات المعدي ونيوكاسل في حقل كربلاء

اظهرت النتائج وجود فروق معنوية بمستوى ($p\leq 0.05$) في معيار الاضداد الموجهة ضد فيروسي نيوكاسل والتهاب القصبات المعدي بين افراخ القاعة الملقحة باللقاح التجريبي المحلي والافراخ في القاعة الملقحة باللقاح التجاري، إذ اشارت نتائج جدول (1) وجود تفوق معنوي بمستوى ($p\leq 0.05$) في معيار الاضداد الموجهة ضد فيروس التهاب القصبات المعدي في مصل افراخ المجموعة الاولى والملقحة باللقاح التجريبي المحلي IB– ND في العمرين 28 و35 يوماً مقارنة بافراخ المجموعة الثانية والملقحة باللقاح التجاري، إذ بلغ معيار الاضداد 3651.20 ±148.18 بعمر 28 يوماً و 3769.80± 144.23 بعمر 35 يوماً مقارنة بمستوى اضداد المجموعة الثانية التي بلغت 1943.40± 303.66 و1801.80 ± 108.61 بالعمرين 28 و35 يوماً على التوالي.

جدول 1: يوضح مستوى معيار الاضداد ضد فايروسي التهاب القصبات المعدي ونيوكاسل بواسطة اختبار الاليزا لافراخ قاعات كربلاء (المعدل ± الخطا القياسي)

المجموعة	المجموعة الاولى الافراخ ملقحة باللقاح التجريبي		المجموعة الثانية الافراخ ملقحة باللقاح التجاري	
العمر	IB	ND	IB	ND
7 يوم	1789.80±209.62 B	3349.00± 84.18 B	2623.60±1280.87 A	2949.40 ± 118.66 B
14 يوم	1220.40±11.754 B	682.40 ± 31.85 B	796.20 ±22.31 B	1538.00 ± 69.31 A
21 يوم	1896.40 ±12.63 B	1230.60 ± 102.56 B	3707.20± 294.59 A	1759.60 ± 98.64 B
28 يوم	3651.20±148.18 A	9575.80 ± 151.06 A	1943.40 ± 303.66 B	3451.60 ± 452.37 B
35 يوم	3769.80±144.23 A	10471.4 ± 255.04 A	1801.80 ± 108.61 B	4826.40 ± 307.88 B

الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية والحروف المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية

اشارت النتائج في الجدول نفسه المذكو آنفاً الى وجود تفوق معنوي ($p \leq 0.05$) في معيار الاضداد ضد فايروس نيوكاسل بالعمرين 28 و35 يوم للقاعة الملقحة باللقاح الثنائي التجريبي وبمقدار 9575.80± 151.06 و10471.4 ± 255.04 على التوالي مقارنة بعيار الاضداد المسجلة للعينات المأخوذة من القاعة الملقحة باللقاح التجاري الثنائي ،إذ كانت 3451.60 ± 452.37 و 4826.40 ± 307.88 على التوالي .

نتائج اختبار الاليزا لاضداد مرضي التهاب القصبات المعدي ونيوكاسل في حقل التاجي 1

بينت نتائج جدول (2) وجود فرق معنوي بمستوى ($p \leq 0.05$) بين المجموعة الاولى والملقحة باللقاح الثنائي التجريبي IB– ND مقارنة بالمجموعة الثانية والملقحة باللقاح الثنائي التجاري IB– ND في معيار الاضداد الموجهة ضد فيروس التهاب القصبات المعدي لعينات مصل الافراخ في الاعمار 21، 28 و35 يوماً، إذ بلغ معيار الاضداد 190.83±2737.00، 191.92± 3645.8 و205.23±3525.00 على التوالي مقارنة بمستوى اضداد المجموعة الثانية التي بلغت 49.67± 749.00، 19.96± 1242.80 و37.74± 1003.60 في الاعمار 21 و28 و35 يوماً على التوالي.

جدول 2: يوضح مستوى معيار الاضداد ضد فايروسي التهاب القصبات المعدي ونيوكاسل بواسطة اختبار الاليزا لافراخ قاعات بغداد التاجي/ 1 (المعدل± الخطأ القياسي)

المجموعة	المجموعة الاولى الافراخ ملقحة باللقاح التجريبي		المجموعة الثانية الافراخ ملقحة باللقاح التجاري	
العمر	IB	ND	IB	ND
7 يوم	1789.00±135.36 B	6151.00±88.47 A	1754.60 ± 66.92 B	3210.40 ± 137.58 B
14 يوم	1532.80±241.66 B	1460.00 ± 335.91 A	1078.00 ± 57.81 B	826.60 ± 68.623 B
21 يوم	2737.00±190.83 A	1691.20 ± 27.47 A	749.00 ± 49.67 B	524.40 ± 29.100 B
28 يوم	3645.8 ±191.92 A	8170.20 ±244.58 A	1242.80 ± 19.96 B	1752.80 ± 229.07 B
35 يوم	3525.00±205.23 A	6354.40 ± 465.58 A	1003.60 ± 37.74 B	2410.40 ± 120.47 B

الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية والحروف المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية

اشارت نتائج جدول (2) الى وجود تفوق معنوي ($p \leq 0.05$) في معيار الاضداد ضد فيروس مرض نيوكاسل بالأعمار 21، 28 و35 يوماً للافراخ الملقحة باللقاح الثنائي التجريبي، إذ بلغت 27.47±1691.20، 244.58±8170.20 و465.58±6354.40 على التوالي مقارنة بمعيار الاضداد للعينات المأخوذة من الافراخ الملقحة باللقاح التجاري الثنائي، فبلغت 29.100±524.40، 229.07±1752.80 و120.47± 2410.40 على التوالي.

نتائج اختبار الاليزا لاضداد مرضي التهاب القصبات المعدي و نيوكاسل في حقل التاجي 2

يبين جدول (3) يبين نتائج معيار الاضداد الموجهة ضد مرض التهاب القصبات المعدي وجود فرق معنوي بمستوى ($p \leq 0.05$) بين المجموعة الاولى والملقحة باللقاح الثنائي التجريبي IB– ND مقارنة بالمجموعة الثانية والملقحة باللقاح الثنائي التجاري IB– ND في عينات مصل الافراخ في الاعمار 21، 28 و35 يوماً، إذ بلغ معيار الاضداد 25.54±2770.20، 165.63±4256.40 و202.52±3656.40 على التوالي مقارنة بمستوى اضداد المجموعة الثانية التي بلغت 70.967±611.20، 120.07±1536.80 و161.03±1539.40 في الاعمار 21، 28 و35 يوماً على التوالي.

جدول 3: يوضح مستوى معيار الاضداد ضد فايروسي التهاب القصبات المعدي ونيوكاسل بواسطة اختبار الاليزا لافراخ قاعات بغداد التاجي/ 2 (المعدل± الخطأ القياسي)

المجموعة	المجموعة الاولى الافراخ ملقحة باللقاح التجريبي		المجموعة الثانية الافراخ ملقحة باللقاح التجاري	
العمر	IB	ND	IB	ND
7 يوم	1899.6 ± 92.26 A	4004.60 ± 165.43 A	1432.60 ± 101.00 B	2946.60 ± 338.41 B
14 يوم	1161.40 ± 148.9 A	988.00 ±24.43 A	476.60 ± 135.16 B	1396.60±85.09 B
21 يوم	2770.20± 25.542 A	1396.60± 85.094 A	611.20± 70.967 B	611.20± 21.991 B
28 يوم	4256.40±165.631 A	5893.00 ±124.215 A	1536.80 ±120.070 B	3990.80 ± 236.231 B
35 يوم	3656.40±202.524 A	14539.2± 894.653 A	1539.40 ± 161.038 B	5800.20 ± 310.332 B

الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية والحروف المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية

وأشارت النتائج في الجدول نفسه المذكور آنفاً الى وجود تفوق معنوي ($p \leq 0.05$) في معيار الاضداد ضد فيروس مرض نيوكاسل بالأعمار 21، 28 و35 يوماً للقاعة الملقحة باللقاح الثنائي التجريبي وبمقدار 1396.60±85.094، 5893.00±124.21 و 14539.2± 894.65 على التوالي مقارنة بمعيار الاضداد المسجلة للعينات المأخوذة من القاعة الملقحة باللقاح التجاري الثنائي، إذ كانت 611.20±21.991، 3990.80± 236.231 و5800.20±310.332 على التوالي.

نتائج اختبار الاليزا لاضداد مرضي التهاب القصبات المعدي ونيوكاسل في حقل الصويرة

دلت نتائج معيار الاضداد الموجهة ضد مرض التهاب القصبات المعدي على وجود فروق معنوية كما ذكر في جدول (4) بمستوى ($p \leq 0.05$) بين المجموعة الاولى والملقحة باللقاح الثنائي التجريبي ND−IB مقارنة بالمجموعة الثانية والملقحة باللقاح الثنائي التجاري IB− ND في عينات مصل الافراخ في العمرين 28 و35 يوماً ،إذ بلغ معيار الاضداد 5529.60± 969.16 و5420.60± 606.09 على التوالي مقارنة بمستوى اضداد المجموعة الثانية التي بلغت 180.47± 1427.20 و 24.88 ±3259.00 في العمرين 28 و35 يوماً على التوالي.

جدول 4: يوضح مستوى معيار الاضداد ضد فايروسي التهاب القصبات المعدي ونيوكاسل بواسطة اختبار الاليزا لافراخ قاعات واسط/ الصويرة (المعدل± الخطأ القياسي)

المجموعة	المجموعة الاولى الافراخ ملقحة باللقاح التجريبي		المجموعة الثانية الافراخ ملقحة باللقاح التجاري	
العمر	IB	ND	IB	ND
7 يوم	2772.80 ±140.26 B	5429.00± 153.66 B	2238.00± 104.19 B	5060.00± 549.58 B
14 يوم	1010.60± 101.12 B	2721.40 ± 444.36 A	959.00± 13.12 B	1088.20± 63.63 B
21 يوم	1550.20± 329.26 B	1281.60± 135.50 B	2160.80± 430.90 A	844.60± 51.32 B
28 يوم	5529.60± 969.16 A	7924.00± 61.27 A	1427.20± 180.47 B	1333.60± 194.52 B
35 يوم	5420.60± 606.09 A	13118.8± 1328.24 A	3259.00± 224.88 B	3314.00± 178.27 B

الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية والحروف المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية

وأشارت النتائج في الجدول نفسه المذكور آنفاً الى وجود تفوق معنوي ($p \leq 0.05$) في معيار الاضداد ضد فيروس نيوكاسل بالعمرين 28 و35 يوماً للقاعة الملقحة باللقاح الثنائي التجريبي وبمقدار 7924.00± 61.27

و13118.8± 1328.24 على التوالي. مقارنة بمعيار الاضداد المسجلة للعينات المأخوذة من القاعة الملقحة باللقاح التجاري الثنائي، إذ كانت 1333.60± 194.52 و3314.00± 178.27 على التوالي.

ان نتائج تقييم الاستجابة المناعية للمجموعة الاولى والملقحة باللقاح الزيتي التجريبي المحلي إرتفاعاً في معدل الاضداد الموجهة ضد فيروسي التهاب القصبات المعدي ونيوكاسل في الايام 21، 28 و35 من عمر الافراخ مقارنة بالمجموعة الثانية التي لقحت افراخها باللقاح الزيتي التجاري، وقد يعزى هذا الاختلاف في معايير الاضداد التي تمت معايرتها بطريقة الإمتزاز المناعي غير المباشر ناتج عن استخدام العتر المحلية في تحضير اللقاح المقتول التي حصنت الافراخ وأكسبتها مناعة عالية ضد المرض المستوطن مسبقاً في اماكن تربية الدجاج المحلي واتفقت نتائج هذه الدراسة مع ماشار إليه الباحث **Waheed** وجماعته (18) الذي اكد ان استخدام العتر المعزولة من إصابات حقلية في تصنيع اللقاحات المحلية كان لها اثراً ايجابياً في حماية قطعان الدجاج المحلي. ان هذا الارتفاع الملحوظ في معيار الاجسام المناعية للمجموعة الملقحة باللقاح التجريبي المحلي باليومين 28 و35 من عمر الافراخ. تعزى الزيادة المعنوية في مستوى الاضداد الى استخدام اللقاح الزيتي الذي يوفر مناعة طويلة الامد وتزداد مع تقدم عمر الطير وقد اشار **Alaxander (19)** من ان استعمال اللقاح الزيتي بالاعمار المبكرة للافراخ سيؤدي الى ارتفاع ملحوظ في معيار الاضداد في الجسم مع تقدم عمر الطير. يحتاج اللقاح الزيتي يوقتاً اطول تقريباً 21 يوماً حتى يوفر مستوى عالي من الاضداد الموجهة ضد مرض التهاب القصبات المعدي (20) ومرض نيوكاسل (21).

وقد يكون هذا الإرتفاع الملحوظ في معيار الاجسام المناعية للمجموعة الملقحة باللقاح التجريبي المحلي باليومين 28 و35 من عمر الافراخ ناتج من استخدام نوع معين من المادة المساعدة الزيتية **adjuvant oil** التي استعمل في تصنيع اللقاح الزيتي المبطل المحلي الذي له القابلية في تحفيز انتاج الاضداد المناعية مقارنة بالانواع الاخرى من المواد المساعدة الاخرى مثل الشب وهيدروكسيد الالمنيوم هذا يتطابق مع ماذكره الباحثان **Erhard** وجماعته (22) والباحث **Jensen** وجماعته (23) من ان المواد المساعدة المستخدمة في تصنيع اللقاح الزيتي له عمل ايجابي في تحفيز المناعة الخلطية في الجسم وهناك انواع افضل من الاخرى في هذا الامر. ان اللقاح المبطل الزيتي قادر على تحفيز مستوى عالى من المناعة الخلطية عند مقارنته باللقاح الحي (7، 24) وخاصة عند معاملته بالعوامل المساعدة كما ان نوع المادة المستخدمة هي الاخرى تودي عملاً مهماً في مستوى معايير الاضداد في الجسم الحي (25). كما ان اللقاح المبطل بشكل عام قادر على تحفيز الاستجابة المناعية المتخصصة التي ترتفع معاييرها بمرور الايام وتظهر بشكل واضح بعد ثلاثة اسابيع واكثر مع تقدم العمر مقارنة بالمناعة التي تظهرها اللقاحات الحية كما اشار اليه ذلك الباحثون **Stone** وجماعته (26) واللذان يتفقان مع ما اشار إلية الكثير من الباحثين الى ان كفاءة اللقاح الزيتي المبطل تزداد مع تقدم العمر وخصوصاً عند استخدامه باعمار مبكرة (27، 28).

المصادر

1- **Gelb J. Jr.; Y. Weisman; B.S. Ladman and R. Meir (2005). S1 gene characteristics and efficacy of vaccination against infectious bronchitis virus field isolates from the United States and Israel (1996 to 2000). Avian Pathology; 34:194-203.**

2- **Cavanagh, D. and S.A. Naqi (2003). Infectious bronchitis. In: Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE (eds). Diseases of Poultry, 11th Ed. p: 101-119. Ames, Iowa States University Press, USA.**

3- **Hofstad, M.S. and H.W. Yoder (1996). Avian infectious bronchitis-virus distrib-ution in tissues of chicks. Avian Dis., 10: 230-239.**

4- **Saif, Y.M.; H.J. Barnes; J.R. Glisson; A.M. Fadly; L.R. McDougald and D.E. Swayne (2008). "Diseases of Poultry". 12th Ed. Iowa State Univ. Press. Blackwell Publishing Company, Iowa, USA. Pp: 117-129.**

5- **Bayry, J.; M.S. Goudar; P.K. Nighot; S.G. Kshirsagar; B.S. Ladman; J.Jr. Gelb; G.R. Ghalsasi and G.N. Kolte (2005). Emergence of a nephropatho-genic avian infectious bronchitis virus with a novel Genotype in Ind. J. Clin. Microbiol., 43: 916-918.**

6- **Kadhum, M.J. (2014). Preparation and evaluation of killed bivalent vaccines using locally strains (infectious bronchitis and Newcastle disease) isolated from broilers. M.Sc. Thesis, College of Veterinary Medicine, Department of Pathology and poultry disease, University of Baghdad.**

7- **Alexander, D.J. and D.A. Senne (2008). Newcastle disease, other avian paramyxoviruses, and pneumovirus infections. In: Saif Y M, Fadly A M, Glisson J R, McDougald L R, Nolan L K, Swayne D. E. (eds) Diseases of Poultry.12th Ed. Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa, p: 7-100.**

8- **King, D. J.; A.C. Fonso; Q. Yu.; C. Estevez and M. Kim (2005). Newcastle disease. Agricultural Research Service. Exotic and Emerging Avian Disease Research Unit, United States Department of Agriculture, USDA.**

9- **Senne, D.A.; D.J. King and O.R. Kapczynski (2004). Control of Newcastle disease by vaccination. Developments in Biologicals (Basal) 119: 165-170.**

10- **Zahid, A.H. and T.A. AlSaeedi (2014). Preparation of live attenuated and killed of Newcastle disease (strain AG68) and immunity evaluation (Abs.). AlQadesya Journal of Veterinary Medicine, 13(1):30-36.**

11- **Sharma, J. M. (2003). The Avian Immune System. 11th ed. Saif, Y. M.; Barnes, H. J.; Glisson, J. R.; Fadly, A. M.; McDougald, L. R. and Swayne, D. E. ed. Iowa State Press, Ames. Poult. Dis., 5: 5-16.**

12- **Bijlenga, G.; J.K.A. Cook; J. Gelb and J.J. DeWit (2004). Development and use of the H strain of avian infectious bronchitis virus from The Netherlands as a vaccine: a review, Avian Pathol., 33:550–557.**

13- **Cavanagh, D. and J. Jr. Gelb (2008). Infectious bronchitis. In: Saif YM, Fadly AM, Glisson JR, McDougald, LR, Nolan LK, Swayne DE., editors. Diseases of poultry. 12th ED. Iowa: Blackwell Publishing, p.117-135.**

14- **Gelb, J. Jr.; J.B. Wolff and C.A. Moran (1991). Variant serotypes of infectious bronchitis virus isolated from commercial layer and broiler chickens. Avian Dis., 35: 82–87.**

15- **Benyeda, Z.; L. Szeredi; T. Mató; T. Süveges; G. Balka; Z. Abonyi-Tóth; M. Rusvai and V. Palya (2010). Comparative histopathology and immunohistochemistry of QX-like, Massachusetts and 793/B serotypes of infectious bronchitis virus infection in chickens', *Journal of Comparative Pathology* 143, 276–283. http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa. 2010.04.007, P Mid: 20570279.**

16- **Office International des Epizooties (2004). Newcastle disease. Chapter 2.1.15. OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, 5th ed. volume 1: Paris Pp. 270–282.**

17- Palaya, V. (1991). Manual for the production of Mareks disease, Gumboro disease and inactivated Newcastle disease vaccines, animal production and health paper 89. Food and Agriculture organization Rome, p:29-60.

18- Waheed, U.; M. Siddique; M. Arshad; M. Ali and S. Ali (2013). Preparation of Newcastle Disease Vaccine from VG/GA Strain and its Evaluation in Commercial Broiler Chicks. Pakistan J. Zool., Vol. 45, (2):339-344.

19- Alexander, D.J. (2003). Newcastle disease, other avian paramyxoviruses, and pneumovirus infections. In: Saif Y.M., Barnes H.J., Glisson J.R., Fadly A.M., McDougald L.R., Swayne D., editors. *Diseases of Poultry.* Ames: Iowa State University Press. pp. 63–99.

20- De Wit, J.J.; W.A.J.M. Swart and T.H.F. Fabri (2010). The efficacy of infectious bronchitis virus vaccinations in the field: association between the α-IBV IgM response, protection and vaccine application parameters. Avian Pathology, 39:123-131.

21- Grimes, S.E. (2002). A basic Laboratory Manual for the small-scale production, and testing of 1-2 Newcastle disease vaccine. Australian Center for International Agricultural Research.

22- Erhard, M.H.; P. Schmidt; P. Zinsmeister; A. Hofmann; U. Munster; B. Kaspers; K.H. Wiesmuller; W.G. Bessler and M. Stangassinger (2000). Adjuvant effects of various lipopeptides and interferon- y on the humoral immune response of chickens. Poult. Sci., 79: 1264-127.

23- Jansen, T.; M.P Hofmans; M.J. Theelen and V.E. Schijns (2005). Structure- activity relations of water– in- oil vaccine formulations and induced antigen specific antibody responses. Vaccine., 23(8): 1053-1060.

24- Rahman, M.M.; A.S. Bari; M. Giasuddin; M.R. Islam; J. Alam and G.C. Sil (2002). Evaluation of maternal and humoral immunity against Newcastle disease virus in chicken. International Journal of Poultry Sci., I (15): 161-163.

25- Abdulwahid, M.T.; A.H. Zahid and M.J. Kadhum (2016). Effect of vitamin E and Cod liver oil supplement with bivalent oil based vaccine of Newcastle disease and Infectious bronchitis disease on immune response of the broilers. The Iraqi Journal of Agricultural Sci., 47(3): 892-899.

26- Stone, H.; B. Mitchell and M. Brugh (1997) . In ovo vaccination of chicken embryo with experimental Newcastle disease and Avian Influenza oil-emulsion vaccines. Avian Disease, 14: 856-863.

27- Zahid, A.H. and S.A. Al-Shammerey (2009). In ovo vaccination against Newcastle disease by using locally prepared inactivated oil based vaccine. Ninth Scientific Conference of Veterinary College, 1:191.

28- Abdulwahid, M.T.; M.A. Alzuhairy and M.J. Kadhum (2017). Effect of Hatching Eggs Injection with Inactivated Newcastle Disease Vaccine and Two Doses of Cod Liver Oil on some Productive Traits and Immune Response of Broilers. Advances in Animal and Veterinary Sci., 5(2):100-106.

FIELD EVALUATION OF BIVALENT KILLED VACCINE OF INFECTIOUS BRONCHITIS AND NEWCASTLE DISEASES PREPARED FROM LOCAL ISOLATED STRAINS OF BROILERS IN IRAQ

M. J. Kadhym* **A. H. Zahid**** **M. T. Abdulwahid****
S. F. Abbas* **A. A. Dawood***

ABSTRACT

This study was aimed to evaluate of oil emulsified vaccine against infectious bronchitis and Newcastle diseases that prepared for the first time in Iraq from strains were isolated from broilers. A total (5000, 4500, 6000,4500) broiler chicks were distributed in four broilers farms in different areas of Iraq (Baghdad/Al-Taji 1, Baghdad/Al-Taji 2, Karbala, Waset) respectively which were previously highly infected areas with Infectious bronchitis and Newcastle diseases. The vaccinated chicks were monitored from 1 to 35 days of age. Blood samples were taken at (7, 14, 21, 28 and 35) days of age.

Statistical results showed significant ($p \leq 0.05$) differences in the immune response of the chicks that were vaccinated chicks with the local inactivated bivalent vaccine (experimental vaccine) by using ELISA. The results revealed a significant high level of antibody titer against IB and ND (each alone) in serum of chicks that vaccinated with the experimental vaccine compared with chicks that vaccinated with commercial inactivated bivalent vaccine at 21, 28 and 35 days of age. These results proved the possible protection of commercial chickens by production oil based IB ND vaccine from locally isolated field strain.

* Vet. Directorate., Ministry of Agric., Baghdad, Iraq.
**College of Vet. Medicine, Baghdad Univ., Baghdad, Iraq.