قياس كفاءة لقاح الايميريا تنيلا المضعف بأشعة كاما في أفراخ فروج اللحم [+]

EVALUATION THE EFFICACY OF ATTENUATED *EIMERIA TENELLA* OOCYSTS AS VACCINE BY GAMMA RAY IN THE BROILER CHICKEN

إحسان كوركيس زكريا [*] يمان قيس سعدالله * دنيا عبدالرزاق عبدالله *

المستخلص:

صممت هده التجربة لاختبار كفاءة لقاح الايميريا تنيلا والمضعف بأشعة كاما (٢٠٠،٢٥٠ كراي) ضد الخمج بالايميريا تنيلا في أفراخ فروج اللحم (٢٤٠ فرخ). حيث جرعت أفراخ المجاميع الأولى (٣٠ فرخ) بجرعة(٢٠٠ كراي) والثانية(٣٠ فرخ) بجرعة(٢٥٠ كراي) في اليوم الأول من التجربة والتي كانت تربيتها في أقفاص حديدية والمجموعة الخامسة(٣٠ فرخ) بجرعة(٢٠٠ كراي) والسادسة(٣٠ فرخ) بجرعة(٢٥٠ كراي) والتي تم تربيتها على الأرض بجرعة ١٠x١ [٤] كيس بيض مبوغ/طير من اللقاح المضعف والمجموعة الثالثة والسابعة تمثلت بمجموعة السيطرة السالبة(٣٠ فرخ لكل مجموعة) والمجموعة الرابعة الثامنة كانت مجموعة السيطرة الموجبة(٣٠ فرخ لكل مجموعة). وتم مراقبة الأفراخ خلال عشرة أيام من إعطاء اللقاح وأظهرت النتائج علامات سريرية خفيفة خاصة في المجموعة الأولى والخامسة مع نسبة هلاكات ٣،٣٣ % و ٦،٦% على التوالي وعدم ظهور أي فروقات معنوية في معدلات الأوزان ومعدل حجم الخلايا المرصوصة وتركيز الهيموكلوبين، وعند إعطاء جرعة التحدي بعمر٣٠يوم وبجرعة ١٠x٦ [٤] كيس بيض مبوغ/طير لأفراخ المجاميع الملقحة ومجاميع السيطرة الموجبة ، أظهرت النتائج علامات بسيطة في المجاميع الممنعة عند مقارنتها مع مجاميع السيطرة الموجبة للمرض وفروقات معنوية واضحة في معدلات الأوزان بين مجاميع السيطرة الموجبة والمجاميع الممنعة. وعند دراسة الصورة الدموية والصفة التشريحية وقياس شدة الآفة أظهرت النتائج وجود فروقات معنوية واضحة بين مجاميع السيطرة الموجبة والمجاميع الممنعة بعد ٧ أيام من إعطاء جرعة التحدي واستمرار الفروقات المعنوية حتى بعد ١٠ أيام من جرعة التحدي، وأفضل نسبة حماية كانت المجموعة السادسة حيث بلغت ٨٦،٠٧% وتليها المجموعة الخامسة ٨٠% ثم المجموعة الثانية ٦٨،٧٥% وتليها الأولى ٦٠،٦٨%.

Abstract:

This study was conducted for determine the ability of *E. tenella* oocysts vaccine after attenuation by gamma ray(200-250 kry)in broiler,in 1st day with dose (1x104 Oocysts / bird) to group 1 (200 kry) group 2 (250 kry) that rared in cages, group 5 (200 kry) & group 6 (250 kry) that raised on earth. The result in group (1&5) showed mild clinical signs and mortality rate (3.33%) in the 1st group & (6.6%) in the 5th group. In challenge test on 30 day by sporulated oocyst (6x104 oocyst / bird), the results were mild clinical signs in immunized groups & there were statistic differences between the immune groups & positive control groups, continued to 7-10 days post challenge. The

[+] تاريخ استلام البحث ٢٠١١/٢/١ ، تاريخ قبول النشر ٢٠١١/١٢/١٢ .

[*] مدرس /المعهد التقني /الموصل

best protective percentage in group 6 was 86.07% & in group 5 was 80% then 68.75 % in group 2 and 60.68% in group 1.

المقدمة:

يعد داء الاكريات coccidiosis من الإمراض التي تصيب الدواجن وتسببها أوالي أحادية الخلية ضمن صنف البوغيات sporozoasida التابعة لشعبة Apicomplexa والتي تعود إلى الاوالي الحيوانية Protozoa التي تسببها عائلة Eimeriidae من جنس Eimeria [1]. وتحدث الإصابة بهذا الطفيلي في جميع الأعمار وخصوصا مابين الأسبوع الرابع والسادس[2]، وتلاحظ أفات عيانية واضحة بعد اليوم الثالث من الخمج وأهمها النزف الذي يحدث نتيجة تلف الأوعية الدموية الشعرية للغشاء المخاطي المبطن للأعورين[3]، وتتميز هذه الطفيليات بخصوصيتها العالية في اختيار المضيف واختيار العضو المناسب للتطور وإكمال دورة حياتها المباشرة [4]، ويمر الطفيلي بثلاثة أطوار وهي طور التكاثر الانفلاقي Schizogony، طور التكاثر المشيجي Gametogony والطور البوغي Sporogony [5]، واهم العوامل المؤثرة على عملية تبوغ أكياس البيض هي درجة الحرارة والرطوبة والإدارة الضعيفة [6].

أن مضادات الأكريات لا توفر الحماية الكافية ضد الكوكسيديا لان دورة الدواء في الدم تلعب دوراً ضعيفاً في حماية الدواجن [7]، لاحظ الباحث[8] ان تكون مناعة ضد المرض للطيور بعد الإصابة الأولية، لذلك اتجه الباحثون في دراستهم على الاهتمام الكبير في جانب المناعة للسيطرة على المرض، واتبعت برامج تمنعية بطرق مختلفة، استخدام أكياس البيض المبوغة والمضعفة بالأشعة، وتعتمد هذه الطريقة على اختزال ضراوة العترة مع المحافظة على قدرتها في إحداث المناعة [9] ومنها أشعة كاما Gamma Ray[10]، وذكر[11] إن استخدام اللقاحات في الدواجن تعطي حماية بنسبة 90% من الإصابات بالأمراض الطفيلية ومنها داء الأكريات، وتختلف أنواع الايميريا في قدرتها على تحفيز الاستجابة المناعية[7].

المواد وطرائق العمل:

١- الأفراخ: استخدمت في التجربة (٢٤٠) فرخ من أفراخ فروج اللحم التي استلمت من إحدى المفاقس الأهلية التابعة لمحافظة نينوى والتي تم تربيتها في غرفة مساحتها ٣×٤م^{٢} بعد عملية تنظيفها وغسلها جيدا وتعقيمها باستخدام الفورمالين ٤٠% وبرمنكنات البوتاسيوم بنسبة ١:٢على التوالي، واستخدام الماء والعلف المركز الخالي من مضادات الاكريات، وتحضير الأقفاص الحديدية النظيفة والمعقمة لغرض تربية الأفراخ فيها.

٢-مصدر أشعة كاما: استخدام جهاز Gamma Cell-220 المجهز من الطاقة الذرية الكندية Atomic Of Canada Limited مصدرا لأشعة كاما المنبعثة من نظير الكوبلت ٦٠ المشع المتواجد في جامعة الموصل/ كلية العلوم/ قسم الكيمياء .

٣- تصميم التجربة: قسمت الأفراخ إلى ثمانية مجاميع وكل مجموعة تضم ١٥ فرخا وكالاتي:

٤- تحضير أكياس البيض الناضجة: تم عزل طفيلي الايميريا تنيلا من إحدى الإصابات العديدة في حقول فروج اللحم التابع لمحافظة نينوى وبعد تحديد نوعها اعتمادا على الفحص المجهري حيث تتميز بأنها أكياس بيضوية الشكل وعديمة اللون ملساء ولا تحتوي على البويب، أبعادها 14.2-31.2×9.5-24.8 مايكروميتر، ذات جدار أملس وثخين ذو طبقة أحادية، وتضم أكياس البيض المتبوغة أربعة أكياس بوغية وكل كيس بوغي يضم كيسين بوغيين[3]، وتم إنضاجها في مختبر الأدوية والعقاقير التابع إلى قسم الصيدلة في المعهد التقني/ الموصل ، وباستخدام محلول ثنائي كرومات البوتاسيوم بتركيز٢,٥% باستخدام حمام مائي هزاز وغسلها وتنقيتها بصورة جيدة جدا باستخدام الماء المقطر، وحساب

إعداد أكياس البيض في ١مل من العالق باستخدام شريحة عد كريات الـدم Haemocytometer [12]، وكمـا فـي المعادلة التالية :

$$\text{معدل أكياس البيض في المليمتر الواحد} = \frac{\text{عدد أكياس البيض في ٨ مربعات}}{٨} \times ١٠٠٠٠$$

= X كيس بيض / ١مل من المحلول

جدول رقم (١) يوضح تصميم التجربة

رقم المجموعة	عدد الأفراخ	نوع التربية	إعطاء اللقاح المضعف بأشعة كاما بعمر ١يوم	فحص التحدي بعمر ٣٠يوم
المجموعة الأولى	١٥ فرخ	أقفاص حديدية	٢٠٠كراي بجرعة ١× ١٠^{٤} كيس بيض مبوغ ومضعف لكل طير	إعطاء جرعة التحدي ٦× ١٠^{٤} كيس بيض مبوغ لكل طير
المجموعة الثانية	١٥ فرخ	أقفاص حديدية	٢٥٠كراي بجرعة ١× ١٠^{٤} كيس بيض مبوغ ومضعف لكل طير	إعطاء جرعة التحدي ٦× ١٠^{٤} كيس بيض مبوغ لكل طير
المجموعة الثالثة	١٥ فرخ	أقفاص حديدية	لم تلقح/ مجموعة السيطرة السالبة	لم تجرع
المجموعة الرابعة	١٥ فرخ	أقفاص حديدية	لم تلقح/ مجموعة السيطرة الموجبة	إعطاء جرعة التحدي ٦× ١٠^{٤} كيس بيض مبوغ لكل طير
المجموعة الخامسة	١٥ فرخ	تربية أرضية	٢٠٠كراي بجرعة ١× ١٠^{٤} كيس بيض مبوغ ومضعف لكل طير	إعطاء جرعة التحدي ٦× ١٠^{٤} كيس بيض مبوغ لكل طير
المجموعة السادسة	١٥ فرخ	تربية أرضية	٢٥٠كراي بجرعة ١× ١٠^{٤} كيس بيض مبوغ ومضعف لكل طير	إعطاء جرعة التحدي ٦× ١٠^{٤} كيس بيض مبوغ لكل طير
المجموعة السابعة	١٥ فرخ	تربية أرضية	لم تلقح/ مجموعة السيطرة السالبة	لم تجرع
المجموعة الثامنة	١٥ فرخ	تربية أرضية	لم تلقح/ مجموعة السيطرة الموجبة	إعطاء جرعة التحدي ٦× ١٠^{٤} كيس بيض مبوغ لكل طير

٥- تحضير اللقاح: تم اختيار أشعة كاما بالجرع ٢٠٠ و٢٥٠ كراي لتضعيف العالق الحاوي علـى أكيـاس البـيض الناضجة بجرعة١× ١٠^{٤} كيس بيض مبوغ ومضعف لكل طير وإعطاءها إلى الأفراخ وبعمر ١ يوم عن طريق التجريع بالفم لمرة واحدة باستخدام سرنجة بلاستيكية معقمة [13].

٦ - اختبار القابلية المناعية لأكياس البيض: تم إجراء فحص التحدي بعمر٣٠ يوم وبجرعة ٦× ١٠^{٤} كيس بيض مبوغ/ طير عن طريق الفم باستخدام سرنجة بلاستيكية [14].

٧- إجراء الفحوصات

أ- الصورة العيانية: تم مراقبة الأفراخ لمدة عشرة أيام بعد إعطاء اللقاح وبعد جرعة التحدي وملاحظة:

- العلامات السريرية: تم متابعة الأعراض السريرية للمجاميع الملقحة وتسجيل كافة الملاحظات السريرية وحسب ما وصفها[15].
- معدل أوزان الأفراخ:تم حساب معدل الوزن للمجاميع الثمانية من بداية كل أسبوع وحساب معدل وزن الفرخ الواحد من خلال تطبيق المعادلة التالية :

$$\text{معدل وزن الفرخ الواحد} = \frac{\text{وزن الأفراخ في كل مجموعة}}{\text{عدد أفراخ المجموعة}}$$

- نسبة الهلاكات: تم مراقبة الأفراخ وحساب نسبة الهلاكات في كل مجموعة اعتباراً من بداية اليوم الخامس وحتى نهاية اليوم الثامن من بعد اللقاح وبعد إجراء فحص التحدي[16].

أ. الصورة الدموية: تم إجراء الفحوصات الدموية على الأفراخ بعد ستة أيام من اللقاح وبعد إجراء فحص التحدي بستة أيام ومنها:

- قياس حجم كريات الدم المرصوصة: Packed Cell Volume (PCV): من خلال جمع الدم لخمسة أفراخ من الوريد الجناحي واستخدام أنابيب شعرية حاوية على مادة الهيبارين مغلقة من طرف واحد واستخدام جهاز الطرد المركزي الخاص بها Haematocrit centrifuge [17].
- قياس تركيز الهيموكلوبين : Haemoglobin Concentration (Hb): اعتمدت طريقة Cyanmethemoglobin من خلال تطبيق المعادلة التالية :

$$\text{تركيز الهيموكلوبين (غم/١٠٠مل)} = \frac{\text{قيمة الامتصاص الضوئي للمجهول}}{\text{قيمة الامتصاص الضوئي للنموذج القياسي}} \times \text{تركيز النموذج القياسي}$$

علما إن تركيز النموذج القياسي = ١٨غم/ ١٠٠مل [18].

ج. إجراء الصفة التشريحية وقياس شدة الآفة: تم إجراء الصفة التشريحية من خلال ذبح ٥ أفراخ من كل مجموعة في اليوم السابع من بعد إجراء فحص التحدي وتشريحها وملاحظة شدة إصابة الأعورين والتي قسمت كما يلي:

0 لا توجد إصابة /1+ احمرار واحتقان بسيط في ظهارة الأعورين / 2+ بداية تثخن جدار الأعورين مع ملاحظة براز دموي في محتويات الأعورين/ 3+ تثخن واضح في جدار الأعورين وامتلائهما بالدم/ 4+ تخريب الظهارة بشك كامل واحتواء الأعورين على كميات كبيرة من الدم [19].

د. نسبة الحماية: تم حساب أعداد أكياس البيض في براز أفراخ المجاميع الثمانية في (١غم) من البراز وحساب نسبة الحماية من خلال تطبيق المعادلة التالية :

نسبة الحماية % = ―――――――――――――――― × ١٠٠
معدل أكياس البيض في مجموعة السيطرة لكل غرام [20]

هــ التحليل الإحصائي: حللت النتائج إحصائياً باســتخدام Statistical Package For Social Science (SPSS) وتحديد الفروقات المعنوية باستخدام اختبار دنكن عند مستوى الاحتمال (P<0.05) [21].

النتائج:

بعد إعطاء اللقاح

تم مراقبة أفراخ التجربة بعد إعطاءه اللقاح بجرعة ١× ١٠ ^{٤} كيس بيض مبوغ ومضعف لكل طير عن طريق الفم وملاحظة:

أ. الصورة العيانية

العلامات السريرية: لم تظهر أفراخ المجاميع الملقحة (الثانية والسادسة) أي علامات سريرية واضحة خلال عــشرة أيام من بعد اللقاح، في حين أظهرت أفراخ المجاميع الملقحة (الأولى والخامسة) علامات سريرية خفيفــة تمثلــت بالخمول وفقدان الشهية ونفوش الريش وتدلي الأجنحة وحالات فردية من الإسهال الدموي.

معدل أوزان الأفراخ: لم تظهر معدلات الأوزان فروقات معنوية عند إجراء التحليل الإحصائي للمجاميع الملقحة وغير الملقحة عند مستوى احتمالية (P<0.05) كما موضح في الجدول (٢).

٣. نسبة الهلاكات: لم تسجل أفراخ المجموعة الثانية والسادسة أي نسبة هلاكات في الفترة (٥–٨) يوم من بعد إعطاء اللقاح في حين أظهرت المجموعة الأولى نسبة هلاكات ٣,٣٣% والمجموعة الخامسة نسبة هلاكات بلغت ٦,٦٦% في نفس المدة الزمنية ، وكما موضح بالمخطط رقم (١).

ب- الصورة الدموية

١. قياس حجم كريات الدم المرصوصة: لم تسجل النتائج أي تغيرات معنويــة فــي معــدلات حجــم كريــات الــدم المرصوصة في المجاميع الملقحة مقارنة بالمجاميع غير الملقحة بعد ٧و١٠ أيام من إعطاء اللقاح عند إجراء التحليــل الإحصائي عليها عند مستوى احتمالية (P<0.05)، كما موضح في الجدول(٣).

٢. تركيز الهيموكلوبين:أظهرت نتائج التجربة عدم وجود أي فروقات معنوية بين المجاميع الملقحة والمجــاميع غيــر الملقحة في تركيز الهيموكلوبين بعد ٧ و١٠ أيام من إعطاء اللقاح، كما موضح في الجدول رقم (٤).

بعد إجراء فحص التحدي

تم مراقبة الأفراخ التجربة بعد إعطاءها جرعة التحدي ٦ × ١٠ ^{٤} كيس بيض مبوغ لكل طيــر بعمــر ٣٠ يومــا وإجراء الصفة التشريحية بعد ٧ و ١٠ أيام من جرعة التحدي وقياس :

أ- الصورة العيانية

١- العلامات السريرية: أظهرت أفراخ المجموعة الرابعة والثامنة الغير ملقحة (مجاميع السيطرة الموجبــة) علامــات سريرية واضحة تمثلت بالخمول الشديد وتدلي الأجنحة وفقدان الشهية في حين أظهرت المجــاميع الملقحــة علامــات سريرية خفيفة تمثلت بخمول وانخفاض بسيط في استهلاك العلف وحالات فردية من الإسهال الدموي الخفيف و تــدلي الأجنحة .

٢- معدل أوزان الأفراخ: لم تظهر أفراخ المجاميع الثمانية أي فروقات معنوية في الأسبوع الرابع من عمر الأفراخ وقبل إعطاء جرعة التحدي عند إجراء التحليل الإحصائي عليها عند مستوى احتمالية $P< 0.05$ في حين أظهرت المجموعة الرابعة فروقات معنوية واضحة في معدلات الأوزان عند مقارنتها مع المجاميع الأولى والثانية والثالثة، وكذلك أظهرت المجموعة الثامنة فروقات معنوية واضحة عند مقارنتها مع المجاميع الخامسة والسادسة والسابعة، وعلى العكس فلم تظهر المجاميع الممنعة فروقات معنوية مع مجاميع السيطرة السالبة للمرض ، وكما موضح بالجدول رقم (٢) .

٤- نسبة الهلاكات: أظهرت المجاميع الغير الملقحة والمعرضة لجرعة التحدي نسبة هلاكات عالية في المجموعة الرابعة ٤٦,٧% والمجموعة الثامنة ٥٣,٣% ، في حين أظهرت المجموعة الأولى الممنعة نسبة هلاكات بلغت ٢٠% ، و١٣,٣% للمجموعة الخامسة ، وأظهرت المجموعة الممنعة الثانية نسبة هلاكات ١٣,٣% والمجموعة الممنعة السادسة نسبة هلاكات ٦,٧% ، أما المجاميع الغير المعرضة لجرعة التحدي (الثالثة والسابعة) لم تظهر أي هلاكات (٠,٠%) ، كما موضح بالمخطط رقم (١).

ب- الصورة الدموية

١. قياس حجم كريات الدم المرصوصة:أظهرت النتائج عدم وجود أي فروقات معنوية في قياس PCV قبل إعطاء جرعة التحدي للمجاميع الثمانية في حين أظهرت النتائج وجود فروقات معنوية واضحة في قيم PCV بين المجاميع الممنعة ومجاميع السيطرة الموجبة للمرض بعد سبعة أيام من إعطاء جرعة التحدي واستمرار الفروقات المعنوية حتى بعد عشرة أيام من فحص التحدي، وكما موضح بالجدول رقم (٣).

٢. تركيز الهيموكلوبين لم تظهر قراءة تركيز الهيموكلوبين لمجاميع التجربة أي فروقات معنوية قبل إجراء فحص التحدي في حين اظهر التحليل الإحصائي وجود فروقات معنوية واضحة بين المجاميع الممنعة ومجاميع السيطرة الموجبة للمرض بعد ٧ و ١٠ أيام من فحص التحدي، في حين لم تظهر المجاميع الممنعة أي فروقات معنوية عند مقارنتها مع مجاميع السيطرة السالبة للمرض ، وكما موضح في الجدول رقم (٤).

ج. إجراء الصفة التشريحية وقياس شدة الآفة: تم ذبح خمسة أفراخ من كل مجموعة في اليوم السابع من بعد جرعة التحدي وإجراء الصفة التشريحية عليها وملاحظة شدة إصابة الأعورين وأظهرت النتائج إن شدة الآفة في المجموعة الثامنة ٣,٤ و المجموعة الرابعة ٣,٢، أما المجموعة الأولى بلغت ٢,٢ والمجموعة الثانية و الخامسة ١,٤ والمجموعة السادسة بلغت شدة الآفة ١، وكما موضح في المخطط رقم (٢).

د. نسبة الحماية: أظهرت النتائج أن نسبة الحماية بلغت في المجموعة السادسة والتي اعطيت اللقاح المضعف بأشعة كاما بجرعة ٢٥٠ كراي ذات التربية الأرضية وأفضل نسبة حماية بلغت ٨٦,٠٧ والمجموعة الخامسة بلغت نسبة الحماية فيها ٨٠% والمجموعة الأولى التي ربيت في الأقفاص الحديدية فقد بلغت ٦٠,٦٧ والمجموعة الثانية ٦٨,٨٥ كما موضح بالمخطط رقم (٢)، اعتمادا على حساب أعداد أكياس البيض في غرام واحد من براز أفراخ المجاميع الثمانية ، وكما موضح بالجدول رقم (٥).

جدول (٢) يوضح معدل أوزان الأفراخ لمجاميع التجربة

رقم المجموعة	اليوم الأول	الأسبوع الأول	الأسبوع الثاني	الأسبوع الثالث	الأسبوع الرابع	الأسبوع الخامس
المجموعة الأولى	42.3 a ± 0. 6	109.11 ab ±٢,٢٥	٢٦١,١١a ±٣,٦٦	٤٥٦,١٣ ab ±٥,٦٧	٧٨8.79ab ±١١,٣٠	١٤٥٩,٢٤c ±١٩,١٣
المجموعة الثانية	43.11 a ±0.33	١٠٩,٧٢ab ±١,١٧	٢٦٨,٢٣a ±٥,٦٣	٤٦٣,٦a ±٥,٧٥	٨١٢,١٣a ±١٣,٧٨	١٥٨١,٧٠ab ±٢٢,٩٦
المجموعة الثالثة	44.09 a ± 0.8	١١٦,١٦a ±٢,٣٢	٢٦٢,١٩ a ±٣,١٦	٤٧١,٣٣a ±٣,٣٥	٨١٢,٧٣a ±10.59	١٦١٥,٨٦a ±١٧,١٣
المجموعة الرابعة	41.69 a ±0.68	١١٣,٨٢ab ±١,٤٦	٢٥٦,٧٦ab ±٥,٣١	٤٧٨,٤٨a ±٥,٢٨	٨١٤,٣٦a ±١٩,١٦	٨٨٢,٢٩d ±٢٣,١٦
المجموعة الخامسة	43.31 a ±0.23	١١١,٩١ab ±٢,١١	٢٦٦,٩١ a ±٣,٥٩	٤٥٨,١١ab ±٥,٩٨	٧٨١,٢٨ a ±٩,٥٥	١٤٣٤,٨٦bc ±١٧,٣١
المجموعة السادسة	43.57 a ±0.42	١١٧,٦٢a ±١,٩٢	٢٧١,١٥ a ±٥,٥٩	٤٦٧,٢٩a ±٣,١١	٧٨٩,١١a ±٨,٦٣	١٦١٥,١١a ±١٤,٣٤
المجموعة السابعة	44.13 a ±0.62	١٢٠,٣٠a ±١,٥١	٢٦٢,٦٣ a ±٣,٣٦	٤7٤,١٣a ±٣,٣٢	٧٩١,٥a ±١١,١٣	١٦٣٤,١٧a ±١٥,٤١
المجموعة الثامنة	41.68 a ±0.23	١١٧,٨١a ±٢,٨٤	٢٦٦,١٣ a ±٣,٦٥	٤٧٣,٧٤a ±٤,٦٧	٧٩٢,٣a ±١١,١٣	٩٣٧,٤٢c ±٢١,٤٠

- **تم التحليل الإحصائي عند مستوى احتمالية (P<0.05)/ ± يمثل الخطأ القياسي/ وحدة القياس = الغرام**

جدول (٣) يوضح قياس حجم الخلايا المرصوصة PCV

رقم المجموعة	بعد (٧) أيام من اللقاح	بعد (١٠) أيام من اللقاح	قبل فحص التحدي	بعد (٧) أيام من فحص التحدي	بعد (١٠) أيام من فحص التحدي
المجموعة الأولى	29.1 ab ± 0.36	30.1 ab ± 0.54	31.9 a ± 0.26	28.4 b ± 0.7	29.6 ab ± 0.54
المجموعة الثانية	30.6 ab ± 0.52	31.4 a ± 0.61	32.2 a ± 0.32	30.3 ab ± 0.71	31.1 a ± 0.42
المجموعة الثالثة	32.0 a ± 0.31	32.3 a ± 0.29	32.9 a ± 0.16	32.3 a ± 0.21	32.2 a ± 0.30
المجموعة الرابعة	31.3 a ± 0.17	32.1 a ± 0.4	32.2 a ±0.15	18.2 d ± 2.64	20.1 c ± 0.76
المجموعة الخامسة	29.4 ab ± 0.22	29.8 ab ± 0.32	30.3 ab ± 0.26	31.2 ab ± 0.54	31.0 a ± 0.37
المجموعة السادسة	29.8 ab ± 0.21	30.0 ab ± 0.31	32.1 a ± 0.22	31.6 a ± 0.46	32.6 a ± 0.36
المجموعة السابعة	32.6 a ± 0.16	31.9 a ± 0.21	32.6 a ± 0.29	32.1 a ± 0.41	32.3 a ± 0.51
المجموعة الثامنة	31.9 a ± 0.27	32.3 a ± 0.18	32.7 a ± 0.13	19.3 d ± 3.43	22.3 c ± 2.33

- **تم التحليل الإحصائي عند مستوى احتمالية (P<0.05) والمقارنة الإحصائية بشكل عمودي/ ± يمثل الخطأ القياسي / وحدة القياس = %**

جدول رقم (٤) يوضح قياس تركيز الهيموكلوبين Hb

رقم المجموعة	بعد (٧) أيام من اللقاح	بعد (١٠) أيام من اللقاح	قبل فحص التحدي	بعد (٧) أيام من فحص التحدي	بعد (١٠) أيام من فحص التحدي
المجموعة الأولى	10.2 b ± 0.17	10.5 ab ± 0.22	11.2 a ± 0.18	9.9 bc ± 1.13	10.4 ab ± 0.36
المجموعة الثانية	10.6 ab ± 0.19	10.9 a ± 0.13	11.3 a ± 0.26	10.6 ab ± 0.62	10.9± 0.22a
المجموعة الثالثة	11.2 a ± 0.15	11.3 a ± 0.06	11.5 a ± 0.15	11.3 a ± 0.21	11.4 a ± 0.11
المجموعة الرابعة	10.9 a ± 0.06	11.2 a ± 0.31	11.3 a ± 0.21	6.4 c ± 3.64	7.04 c ± 2.68
المجموعة الخامسة	10.3 ab ± 0.19	10.4 ab ± 0.24	10.6 ab ± 0.18	10.9 a ± 0.21	10.8 ab ±0.26
المجموعة السادسة	10.4 ab ± 0.13	10.5 ab ± 0.16	11.2 a ± 0.24	11.1 a ± 0.19	11.4 a ± 0.21
المجموعة السابعة	11.4 a ± 0.11	11.2 a ± 0.23	11.4 a ± 0.21	11.2 a ± 0.19	11.3 a ± 0.24
المجموعة الثامنة	11.2 a ± 0.30	11.3 a ± 0.11	11.5 a ± 0.16	6.8 c ± 2.76	7.8 c ± 3.11

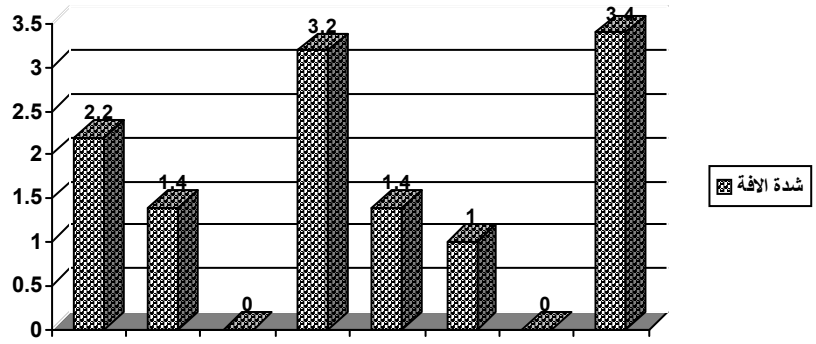
- تم التحليل الإحصائي عند مستوى احتمالية (P<0.05) والمقارنة الإحصائية بشكل عمودي /

± يمثل الخطأ القياسي/ وحدة القياس = غم/١٠٠مل

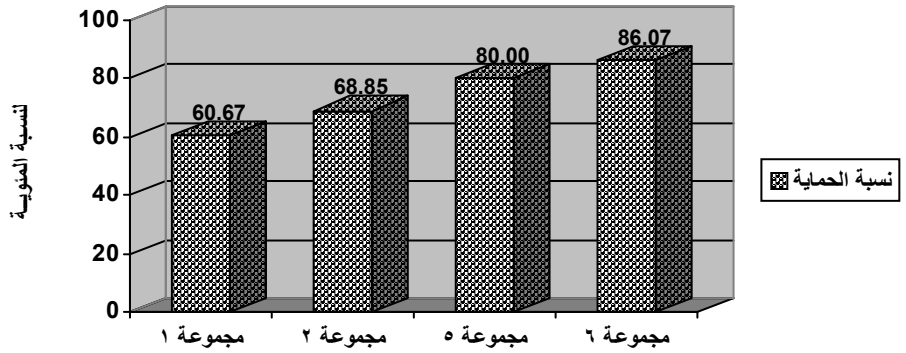
جدول رقم (5) يوضح عدد أكياس البيض في ١غم من البراز بعد سبعة أيام من جرعة التحدي

رقم المجموعة	أعداد أكياس البيض في ١غم من البراز
المجموعة الأولى	1.02×410
المجموعة الثانية	0.81×410
المجموعة الثالثة	لم تخمج
المجموعة الرابعة	2.60×410
المجموعة الخامسة	0.56×410
المجموعة السادسة	0.39×410
المجموعة السابعة	لم تخمج
المجموعة الثامنة	2.80×410

مخطط رقم (2) يوضح شدة الافة في أفراخ مجاميع التجربة



مخطط رقم (٣) يوضح نسبة الحماية في أفراخ مجاميع التجربة



يعتبر التشعيع من الوسائل المستخدمة في تضعيف أكياس البيض لطفيلي الايميريا حيث يعمل التشعيع من خلال الفقدان الجزئي لضراوة أكياس البيض بدلا من اختزال العدد الكلي لأكياس البيض المبوغة [1]. وأكد الباحثون [3,2] إن أكياس البيض المبوغة المعرضة للتشعيع احتفاظها بالقابلية التمنيعية مع انخفاض في أمراضيتها . وعند فحص أمراضية الطفيلي المشعع بعد إعطائه للأفراخ في اليوم الأول من عمر الأفراخ ومراقبة الأفراخ لوحظ إن المجاميع الملقحة الثانية والسادسة لم تظهر أي علامات سريرية واضحة في حين أظهرت المجموعة الملقحة الأولى والخامسة علامات سريرية حقيقية رغم أنها كانت طفيفة ، وان معدلات الأوزان لم تظهر أي فروقات معنوية بين جميع المجاميع وهذا يدل على إن أشعة كاما لها القدرة على إضعاف أكياس البيض المبوغة مما يعمل على فقدانها قابليتها الامراضية مع الاحتفاظ بقدرتها الاستضدادية أي أن لها القدرة على تحفيز الجهاز المناعي [22]. لم تسجل أي نسبة هلاكات في المجاميع الثانية والسادسة في حين أظهرت المجاميع الملقحة الأخرى نسبة هلاكات بسيطة وهذا ما أكده الباحثون[23] حيث أن أكياس البيض المبوغة والمعرضة لجرع مختلفة من أشعة كاما تباينت نسبة تأثيرها بالاعتماد على الجرعة ، فعند استخدام الجرعة ٢٠٠ كراي أثرت على غالبية أكياس البيض وبقي عدد قليل منها غير متأثر مما يجعل البويغات غير المتأثرة قادرة على إكمال دورة حياتها . أما الجرعة الإشعاعية الأكبر والتي هي ٢٥٠ كراي فقد أثرت على أكياس البيض

وبالأخص على قدرة غالبية البويغات المتحررة من إكمال مراحلها التطورية بعد اختراقها للطبقات الظهارية في حين أن قسما من هذه البويغات المتحررة استطاعت من التطور إلى المراحل الأولية مع فقداها قابليتها من التطور إلى المراحل الأخرى ومنها المفلوقات والأمشاج .وان هذا العدد القليل من أكياس البيض القادر على إكمال دورة حياته كان غير كافي لإظهار العلامات السريرية الخاصة بالإصابة الطفيلية وكذلك في نسبة الهلاكات وان الأفراخ التي جرعت باللقاح المضعف بأشعة كاما وخصوصا في جرعة ٢٠٠ كراي أبدت تغييرات مرضية طفيفة جداً [24] . ولوحظ انخفاض بسيط غير معنوي في قياس حجم الخلايا المرصوصة وقياس تركيز الهيموكلوبين للمجاميع الممنعة عند مقارنتها مع المجامع غير الممنعة وهذا يدل على إن أكياس البيض المبوغة والتي ضعفت لم يكن لها القدرة على إحداث التخريب في نسيج الأعورين وعدم حدوث النزيف في الأعور مما جعل قيم PCV و Hb للمجاميع الممنعة مقاربة للمجاميع الغير ملقحة وهذا ما أكده الباحثان[25] وعند دراسة القابلية التمنيعية لأكياس البيض المشعة من خلال إجراء فحص التحدي من خلال حقن أفراخ المجاميع الممنعة بأكياس البيض المبوغة بجرعة ٦x ١٠ ٤ كيس بيض مبوغ / طير ومقارنتها مع أفراخ مجموعة السيطرة السالبة والموجبة للمرض . وأظهرت التجربة عدم وجود فروقات معنوية في الحالة الصحية لأفراخ المجاميع الممنعة عند مقارنتها بأفراخ مجموعة السيطرة السالبة للمرض في حين أظهرت أفراخ مجموعة السيطرة الموجبة علامات سريرية واضحة وهذا يتفق مع الباحثون [26,10] الذين أكدوا على تولد المناعة لجميع أفراخ المجاميع الممنعة ضد الإصابة الطفيلية وان ظهور العلامات السريرية البسيطة ونسبة الهلاكات الأقل عند مقارنتها مع مجاميع السيطرة الموجبة يعزى إلى أن المناعة المتولدة لدى الأفراخ التي جرعت باللقاح المضعف بأشعة كاما كانت جيدة بحيث كان لها الفضل بحماية هذه الأفراخ من جرعة التحدي وهذا ما اتفق مع الباحثون [27,19]، وان الاضطراب الحاصل من قبل الخلايا اللمفاوية يؤدي إلى فشل إكمال دورة حياة الطفيلي في الأفراخ الممنعة [30,29.28]، وتعد الخلايا اللمفية T ذات دور مهم ومركزي في إحداث المناعة الخلوية والتي تلعب دورا كبيرا في الوقاية من الاخماج الطفيلية [20] وتحدث هذه الاستجابة نتيجة لغزو الخلايا الظهارية الحية للطير المصاب من قبل الطفيلي [14]. وان ظهور الضد IgA في منطقة دخول ووجود الطفيلي بصورة سريعة ومؤثرة يعمل على إعاقة البويغات من اختراق الخلايا المعوية وبالتالي إطالة تعرضها للتأثيرات المعوية الضارة بالنسبة للطفيلي في تجويف الأمعاء وفشلها في اختراق الخلايا الظهارية [32.31]، وكذلك إن لهذه الأضداد تأثير على الاقسومات ومن خلال معادلتها Neutralization واختزال قابليتها على التكاثر وتلازنها Agglutination مع الطفيلي وتحلله [12] .وتعتمد الاستجابة المناعية التي يحدثها الخمج الأولي بطفيلي *E.tenella* على طريقة التمنيع ونوع الطفيلي وعمر الأفراخ[33,2]، وأكد الباحث [34] أن المناعة المتولدة ترتفع بشكل ملحوظ في اليوم العاشر بعد الخمج وتصل ذروتها بعد أربع أسابيع ثم تبدأ بالهبوط التدريجي ، وأكد الباحثون[35] أن الزيادة السريعة في الاستجابة المناعية الخلوية والخلطية تبدأ من اليوم الثامن بعد الخمج وتستمر حتى الأسبوع السادس ، وان الاستجابة المناعية للأفراخ الملقحة بطفيلي *E.tenella* يمكن أن تكون بثلاث مستويات من خلال مقاومة الأفراخ لظهور العلامات السريرية وتطور الطفيلي داخل الأعورين والتغيرات المرضية بعد فحص التحدي[36]. ويظهر مما تقدم أن اللقاحات الناجحة لها القدرة على توليد مناعة مقبولة في حقبة زمنية قصيرة ذا تأثير طويل بحيث لا تسبب أضرارا كبيرة على الأفراخ مع عدم نشر الخمج بين القطيع فضلا عن الكلفة الاقتصادية القليلة [36,34].

المصادر :

1- Trees, A.J. Parasitis disease. In: Jordan, F.I.W. 1ed. Poultry disease .3rd .english language book. Society, Bailliere, Tindall, pp. 226-233, 1990 .

2- Williams, R.B. Epidemological studies of coccidiosis in the domesticated fowl (Gallus gallus): the fate of ingested oocysts of Eimeria tenella during the prepatent period in susceptible chicks. Apple. Parasitology.,36:83- 90 , 1995 .

3- Soulsby, E.J. Coccidiosis of domestic fowl. In: Helminths, Arthropods and Protozoa of domesticated animals. 7th ed. Bailliere, Tindall, London , 1982 .

4- Long, P.L. The effect of breed of chickens on resistance to Eimeria infection. Brit. Poultry .Sci. 9: 71-78 , 1968 .

5- Shirley, M.W. and Harvey, D.A. Agenetic linkage map of the Apicomplexan protozoan parasite Eimeria tenella . Genome Research, vol. 10 Issue 10 pp.: 1587- 1593 , 2004 .

6- Jordan, F.T. and Pattison, M. Poultry Disease, 4th ed., Norweech, England, 34: 260-276 , 1997 .

7- Carmichael, I. and Melb, D. V. Coccidiosis, Chief Vet. Parasitologist, South Australia , 1998 .

8- Rose, M.E.; long, P. L. and Bradly, J.W.A. Immune responses to infection with Coccidia in chickens gut hypersensitivity.Parasitol 71:357-368 , 1975 .

9- Rose, M. E. Immunity of Eimeria infection .Vet. Immune and Imuno. Pathol., 17: 333 – 343 , 1987 .

١٠-الصفار، ربى احمد شوقي. الكفاءة التمنيعية لطفيلي الاكريات المضعفة بأشعة كاما في 21 دجاج اللحم ، رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد ، بغداد ، العراق ، ٢٠٠١ .

11- Barrage, O. Current status of vaccine in veterinary Parasitology, Protozoa and arthropods. Adancas-en-ciencias. pp. 84-99 , 1993 .

12 - Al-Attar, M. A. Factors affecting the pathogensis of *Eimeria necatrix* infection in chicken, PhD. Thes is University of Gulph Canada , 1981 .

13- Jenkins, M.C., castle, M.D. and Dnanforth, H.D. Protective immunization against the intestinal parasite *Eimeria acervulina* with recombinant coccidal intigen. Poult. Sci. 70: 539- 547 , 1991 .

١٤-الحبش ، قيس قرياقوس . إمكانية استخدام الايفرمكتين للوقاية والعلاج من الخمج بالايميريا تنيلا- 10 في فروج اللحم ، رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق ، ٢٠٠٣ .

15- Reid, W. M., Long, P. L. and MeDougold L. R. Coccidiosis In: Disease of poultry. Ed. By: Hofstad, Lowa state university press. pp. 692-712 , 1984 .

16- Edward, C. M., William, C. C and Cuckler, A. C. Development of resistance to quinoline coccidian states under field and laboratory conditions. J. parasit. , 54: 1190-1193 , 1968 .

17- Mukkur, T. K. and Bradly, R.E. *Eimeria tenella* : Paked blood cell volum , hemoglobin and serum proteins of chickens correlated with the immune state . Exp. Parasit., 16 :1-16 , 1969 .

18- Pilaske, J.. Body fluid: blood. In: Sturkie, P.D. (ed.). Avian physiology. 4th ed. Springer – verlog . Newyork, Berlin , Heidelberg . Tokyo, pp. 113- 114 , (1972). (Cited by sturkie, P.D. and Griminger, P. , 1986 .

19- Tosnimi , N. , Nobuo , K. , Fumlo , H. , Toshiguki , Y , Kin- Ichi , I. and Kiroshi , O. *Eimeria tenella, E. necatrix, E. acervulina* and *E. maxima*. Anticoccidial activity of 1,6 – Dihydro- 6 – oxo – 2 – Pyrazine carboxylic acid – 4 – oxide Exp. Parasitol. , 57: 55- 61 , 1984 .

20- Lillehoj, N. S. Influence of inoculation dose, inoculation sechedule, chicken age host genetic on disease susceptibility and development of risistance to Eimeria tenella infection . Avian Embryose Parasitolology, 59: 575 – 581 , 1987 .

٢١- الراوي، خاشع محمود المدخل إلى الإحصاء، الطبعة الثانية، دار الكتب للطباعة والنشر، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق ، ٢٠٠٠ .

22- Jenkins,M. C.; Chute , M. B. & Danforth , H. D. Protection against coccidiosis in outbreeds chickens elicited by gamma irradiated *Eimeria maxima*. Avian Dis., 41 (3): 702-708 , 1997 .

23- Jenkins,M. C. ; Seferian , P. G. ; Augustine ,P. C. & Danforth , H. D . Protective immunity against coccidiosis elicited by gamma radiation attenuated *E. maxima*. Sporozoit that is incapable of asexual development. Avian Dis.,37: 74- 82 , 1993 .

٢٤-كساب ، أثير وكاظم ، فرقان صبار . تقييم لقاح ضد داء الاكريات الاعورية المنتج محليا في ذكور مات الفابرو ، المجلة الطبية البيطرية ، مجلد ٢٧ ، العدد ١ : ١ – ٢٦ ، ٢٠٠٣.

25- Giambrone, J. J. & Klesius, Ph. Effect of levamisole of the response of broilers to coccidiosis vaccination, Poult. Sci, 64 (6): 1083 – 1090 , 1985 .

٢٦- القشطيني ، رأفت مظهر. تضعيف الايميريا تنيلا بالإشعاع لأغراض التحصين في الدجاج ، رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد ، بغداد ، العراق ، ١٩٩٤

27- Rose, M. E. Immunity to coccidia. In: Darison, T. F. ; Morris, T. R. & Payane, L. N. (eds). Poultry immunology.Thams, Viem, Abingdon, oxford Ltd. Pp 265–299 , 1996 .

28- Rose, M. E.; Lawn, A. M. & Millard, B. J. The effect of immunity on the early events in the life cycle of *Eimeria tenella* in the cecal mucosa of the chicken .Parasitol., 88: 199 – 210 , 1984 .

29- McDouglad, V. Gut intraepithelial lymphocytes &immunity to coccidia . Parasitology, today, 15:483 – 487 , 1999 .

30- Davis, P. J. & Porter, P. A mechanical for secretary IgA mediated inhibition of the cell penetration & intracellular development of *Eimeria tenella* . Immunology, 36: 471 – 477 , 1979 .

31- Rose, M. E. Immune response of chickens to coccidia & coccidiosis In: Long, P. L. ; Boorman, K. N. & freeman, B. M. (ed). Avian coccidiosis . Brit. Poultry Sci., Ltd pp. 297 – 336 , 1978 .

32- Rose, M. E. Immune responses to Eimeria infections In: - McDouglad, L. R.; Joyner, L. P. & Long, L. P. (eds) Research in avian coccidiosis. University of Georgia, Athens, Ga. Pp. 449 , 1986 .

33- Breed, D. G. ; Dorrestein, J. & Vermeulen, A. Immunity to Eimeria tenella in chickens: Phenotypical and functional changes in peripheral blood , the – cell subsets . Avian Dis., 40: 37 – 48 , 1996 .

34- Long, P. L.; Johnson, J. J. & Wyatt, R. D. *Eimeria tenella* clinical effect in partially immune and susceptible chickens. Poult. Sci., 59: 2221 – 2224 , 1980

35- Rose, M. E.; Hesketh, P.; Grenics, R. K. & Eancroft, A. J. Vaccination against coccidioss: Host strain, Dependent evaction of protective and suppressive subsets of murine lymphocytes parasite. Immunol., 22:61 – 172 , 2000 .

36- Williams, R. B. & Catchpole, J. Anew protocol for challenge test to assess the efficacy of live anticoccidial vaccine, 18: 1178 – 1185 , 2000 .