تقييم لقاح ضد داء الاكريات الاعورية المنتج محليا في ذكور أمهات الفاوبرو

أثير كساب فرقان صبار كاظم

فرع الأمراض والدواجن ، كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد

الخلاصة

عرضت أكياس البيض الناضجة لطفيلي *Eimeria tenella* إلى جرعتين مختلفتين من أشعة كاما 200 و300 كراي ، ودرست نسب الإخراج Excystation مقارنة بمجموعة السيطرة ودرست الكفاءة التمنيعية للأكياس المشععة في دجاج اللحم الذي لقح بجرعة 103x5كيس بيض/ فرخ , استخدم في التجربة 1500 فرخ قسمت الى ست مجاميع. المجموعة الاولى والثانية والثالثة 300 فرخا لكل مجموعة والمجموعة الرابعة والخامسة والسادسة 200 فرخا لكل مجموعة ولقحت اربع مجاميع بعمر ثمانية ايام كالاتي:

1.مجموعة السيطرة (control-C) تركت كمجموعة السيطرة.

2.المجموعة الملقحة بالعلف (with feed-W F) لقحت عن طريق العلف.

3.المجموعة الملحقة بماء الشرب (drinking water-DW) لقحت بماء الشرب.

4.المجموعة الملحقة بالحوصلة(crop inoculation-CI) لقحت بالحوصلة مباشرة.

5.المجموعة الملقحة بالرش (spray-SP) لقحت عن طريق الرش الخشن.

6.المجموعة الملقحة بالحوصلة مرتين(crop inoculation twice-CIT) لقحت في الحوصلة بعمر يوم واحد بأكياس بيض مشععة بجرعة 300 كراي وبعمر 14 يوما بأكياس بيض مشععة بجرعة 200 كراي.

وتم التحدي بعمر 40 يوما بجرعة 104x5 كيس بيض/ فرخ.

تمت مراقبة الأفراخ بعد التلقيح وسجلت العلامات السريرية طوال فترة التجربة ومعدل أوزان الأفراخ أسبوعيا,أما دليل الآفة العيانية وحجم خلايا الدم المرصوصة ونسبة رطوبة الفرشة ومعدل اكياس البيض في الفرشة ومعدل أكياس البيض في محتويات الأعورين فقد تمت بعد التلقيح باسبوع وقبل التحدي بيوم واحد وبعد التحدي بأسبوع ثم حسبت نسبة الحماية للأفراخ الملقحة وكذلك نسبة الهلاكات.

تبين من النتائج فقدان أكياس البيض المشععة لامراضيتها ولم تسجل علامات سريرية مهمة بعد التلقيح ولكن اظهرت بعض الأفراخ ولجميع المجاميع برازا مدمما بسيطا بفترات مختلفة, أظهرت كذلك بعض المجاميع زيادة وزنية مهمة عن مجموعة السيطرة قبل وبعد التحدي. أما المعايير

المختلفة الاخرى المذكورة اعلاة فقد اظهرت تفوقا مهما للمجاميع الملقحة عن مجموعة السيطرة. وعند حساب نسبة الحماية اظهرت المجموعةWF 93.5% والمجموعة DW 88.8% والمجموعة CI 98.3% والمجموعة SP 98.1% والمجموعة CIT 82.2% اما نسب الهلاك فقد سجلت المجاميع الملقحة فرقا مهما احصائيا عن مجموعة السيطرة اذ سجلت مجموعة CIT اعلى نسبة هلاك 2.9% ولم تسجل المجموعتان CI و SP اى هلاكات مقارنة بمجموعة السيطرة التي سجلت 10%.

تبين أن تلقيح الافراخ بجميع الطرائق المستخدمة كان جيدا في توليد حماية الافراخ وتمت التوصية باستخدام طريقة الرش الخشن Corse spray في التلقيح تليها طرائق الماء ثم العلف.

Evaluation of locally produced caecal coccidiosis vaccine in male Faobro breeders

Atheer K.Kasab and Furkan S. Khadhim
Poultry and Disease Dept. College of Vet. Med., Baghdad University

Summary

Mature oocysts of *Eimeria tenella* have been attenuated by Gemma irradiation 200 and 300 gray. Excystation of occysts were examined. The immunoeffeciency of irradiated oocysts were studied in broiler that vaccinated with $5x10^3$ attenuated oocyst per chick. A total of 1500 day-old Faobro chicks were divided into 6 groups and were treated as follows:

Group C: un vaccinated control.
Group WF: Given the vaccine in the feed.
Group DW: Given the vaccine in drinking water.
Group CI: Given the vaccine in the crop.
Group SP: Given the as a coarse spray.
Group CIT: Given the attenuated vaccine in the crop (300 Gray) at day old and (200 Gray) at 14 days of age.

The groups were challenged at 40 days of age with $5x10^4$ viable oocysts of *Eimeria tenella* per chick.

The clinical sings were recorded, the body weight was taken weekly, lesion score, packed cell volume, litter moisture, oocyst count in the litter and oocyst count in the caecal content were determined one week after vaccination, one day before challenge and one week after challenge. The protection ratio and mortality rate were estimated. Results revealed that attenuated oocysts have lost its pathogenicity, no clear clinical sings after vaccination has been recorded, but some chicks of all vaccinated groups show a slight bloody excretion. Some groups given significant increase in body weight in

comparison with the control before and after challenge. The protection ratio was 93.5% for WF, 88.8% for DW, 98.3% for CI, 93.1% for SP and 82.2% for CIT group. The mortality rate was significantly higher in the control than the vaccinated groups, the CIT group recorded mortality that was 2.9% the CI and SP recorded 0% and the C group recorded 10%

It was concluded that vaccination with all the methods used in this experiment provided good protection against challenge. The spray method was recommended best, then the drinking water and then with feed method.

المقدمة

يعد داء الاكريات Coccidoosis احد امراض الدواجن الطفيلية الواسعة الانتشار في انحاء العالم كافة. وعلى الرغم من التقدم الذي احرز في مجال العلاج والوقاية منه فانه لايـــزا ل يسـبب خسائر اقتصادية كبيرة متمثلة في ارتفاع الهلاكات [1] , وانخفاض الوزن وزيادة قابليـــة الافـــراخ للاصابات الثانوية بعوامل مرضية اخرى فايروسية وجرثومية [2] وفي المبالغ التي تصرف من اجل الوقاية والعلاج[3,4].

اعطي جانب المناعةاهمية كبيرة للسيطرة على امراض [5] فقد اتبعت عدة برامج تمنيعيـــة وبطرائق مختلفة منها اعطاء جرع قليلة من اكياس البيض الضارية Trickle infection [6,7] . او مستخلص بعض المستضدات الخاصة بالطفيلي [8] او اتباع طرائـــق الهندســة الوراثيـــة لتحضـــير المستضدات الخاصة بالطفيلي[9]. ولكنها تبقى محاولات غير امينة وقد تسبب اصابـــات شـــديدة ولا توفر الحماية الكافية ، لذا توجه بعض االباحثين الى تضعيف الطفيلي بطرائق عدة منها التكييف في اجنة الدجاج Embryo adaptation [10] أو اختيار العترة المبكـــرة precocious strain [11,12] او تعريف اكياس بيض الطفيلي للتشعيع radiation والتي كـــانت بداياتـــها عـــام 1937 [13] باستخدام الاشعة السينية كما قام الباحث[14] Waxler) باستخدام جرع متكررة فـــي التمنيـــع وذلـــك بتشعيع بيوض الايميريا تنيلا بجرع مختلفة من الاشعة السينية 45 ,90 ,135 كراي ومن ثم فحـــص امراضيتها مقارنة بالطفيلي غير المشعع وذلك اعتمادا علي مستوى خضاب الدم بعد سبعة ايام مـــن الاصابة ونسب الهلاكات . كذلك قام الباحث Waxler بفحص الطفيلي المضعف بعد ستة أسابيع مـن تعرضه للاشعاع ولاحظ احتفاظه بالتضعيف. وفي محاولات لاحقة لتمنيع الافراخ باستعمال طفيلـــي الايميريا المشععة، قام الباحث Hein[15] باستخدام الايميريا تنيلا المشععة بالاشعة السينية في التلقيح بماء الشرب ولمرتين لاحظ فيها عدم تطور علامات سريرية للمرض قبل وبعد فحـــص التحـــدي ، كذلك قام الباحثان Hartmonova and Ziegler, [16] بدراسة نسجية مرضية مقارنه لافـــراخ تـــم اصابتهما بالايميريا تينيلا بجرعة مقدارها 1×10^5 كيس بيضة لكل طير بعد ستة عشر يومـــا مـــن

تمنيعها باكياس بيض بجرعة مقدارها 5 x 10^3 كيس بيض مشعة 10 كراي بجرعة 5 x 10^4 و 1 x 10^5 كيس بيض لكل طير فوجد من خلالها ان المجموعة الاولى والثانية استطاع فيها ان يكمل مراحل تطوره الداخلية بينما المجموعة الاخيرة لم يلاحظ فيها سوى اجيال ثانية غير ناضجة من المفلوقاتimmature 2 nd - generation schizonts ، ومن خلال الدراسات التي قام بها Ziegler [17] للتمنيع ضد الايميريا تينيلا باستعمال بيوض الطفيلي المشعة بجرعة 250 كراي من الاشعة السينية توصل الى ان الافراخ التي اصيبت بجرعة 1 x 10^5 كيس بيض طير لم تتطور فيها علامات سريرية تذكر ، وعند فحصه للقابلية التشعيعية قام باعطاء الافراخ جرعة قدرها 1 x 10^5 كيس بيض لكل طير من اكياس البيض المشعة بـ100 كراي ولاحظ من خلال تطور المناعة بعد التجريع التي وصلت اعلى مستوى لها عند 20-31 يوما معتمدا عاى فحص نسبة الهلاك والافات العيانية ومعدل الزيادة الوزنية وعدد اكياس البيض المطروحة بعد فحص التحدي، وفي دراسة اخرى تضمنت تمنيع الافراخ بعمر ثلاثة أسابيع باستخدام بيوض طفيلي الـ*E . tenella* وال *E. necatrix* وال*E. brunetti* والمشعة باشعة كاما 100 كراي وبجرعة 1 x 10^4 و2x 10^4 و x5 10^4 كيس بيضة طير على التوالي لوحظ تولد المناعة الكافية بعد اسبوعين من التمنيع وقد شجعت هذه النتائج الباحثين على امكانية الاستفادة من طريقة التشعيع في تلقيح الافراخ ضد داء الاكريات [18] وهناك محاولات عديدة بخصوص تشعيع أنواع اخرى من الايميريا مثل *E. acervulina* [19] التي لاحظت وجود ثلأثة أنواع من جرع التشعيع, الجرعة العالية اكثر من 160 كراي ادت إلى اعاقة تكاثر الطفيلي وبالتالي عدم تولد المناعة وان الجرعة الواطئة اقل من 70 كراي لم تؤثر على تكاثر الطفيلي وولدت مناعة بشكل لايفرق عن مثيلة غير المشعع.

كما ذكر الاعظمي [20] أن الجرع 150, 200, 250كراي للايميريا نيكاتركس يؤدي الى تضعيف الايميريا بنفس الوقت الذي يبقى فية الطفيلي محتفضا بقابليته التمنيعية .

أن هذه النتائج شجعت الباحثين على امكانية الاستفادة من طريقة التشعيع في تلقيح الافراخ ضد داء الاكريات [18] , الا انه لم يتم معرفة فيما اذا كان التشعيع يؤدي الى التأثير على المراحل التطويرية للطفيلي او الى قتل اعداد من أكياس البيض المشعة [21]. في بحوث اجريت من قبل الباحثين انفسهم شملت استعمال انواع اخرى من الايميريا هي *E. acervulina*.[22] باستخدام الاشعه السينية وال *E. maxima* [23] باستخدام اشعة كاما والتي توصل فيها للنتائج نفسها التي حصل عليها في حالة الايميريا تنيلا وهي ان التشعيع لايؤثر على قابلية الطفيلى لاختراق الخلايا الطلائية في الامعاء ولكنه يؤثر على قابلية الطفيلي للمنو والانتقال الى مراحل النمو الداخلية الاخرى مثل تكون

الجيل الاول من الاقسومات والمراحل الاخرى لدورة الحياة وبذلك يؤثر تأثيرا مباشرا على تكون اكياس البيض.

كما أكدت شوقي [24] ان تلقيح الافراخ لجرعتين من عالق اكياس البيض والمشعة بجرع 200 و300 كراي على التوالي وبفارق 14 يوما كانت كافية لتوفير حماية ضد المرض ولكن تم ذلك في التربية بالاقفاص. ونظرا لاهمية كون الاصابه بالايميريا تنلا تشكل النسبة الاكبر من الاصابات في بغداد تقدر بـ 85.3% من مجموع الاصابات بانواع الايميريا الاخرى التي تصيب الدواجن [25] ونظرا لما تسببه من خسائر اقتصادية عالية وهلاكات لذا تم اختيار هذا النوع من الايميريا محورا للدراسه الحالية وتقيم اللقاح المنتج محليا واعطائه بعده طرائق بغية التوصل إلى افضلها بتطبيقها حقليا وفي التربية على الفراشه بدلا من الاقفاص.

المواد وطرائق العمل

تم تقسيم 1500 فرخا من ذكور امهات دجاج اللحم سلالة الفاوبرو الى ستة مجاميع وسميت وعوملت كما ياتي:

مجموعة C : 300 فرخا سيطرة لم تلقح بلقاح الاكريات الاعورية.

مجموعة WF : 300 فرخا لقحت بلقاح الاكريات الاعورية بخلط بالعلف.

مجموعة DW : 300 فرخا لقحت بلقاح الاكريات الاعورية بماء الشرب.

مجموعة CI : 200 فرخا لقحت بالحوصلة مباشرة.

مجموعة SP : 200 فرخا لقحت عن طريق الرش.

مجموعة CIT : 200 فرخا لقحت بالحواصل مباشره بجرعتين.

تم اعطاء اللقاح بجرعة $x510^3$ للمجاميع SP, CI, DW, WF, بعمر 8 أيام بلقاح مشعع 200 كراي. وتم اعطاء اللقاح للمجموعة CIT بعمر1 و14 يوما بلقاح مشعع 200 و 300 كراى على التوالي. تم التحدي بعمر40 يوما بجرعة $x5 10^4$ كيس بيضة لكل فرخا.

لغرض تحضير اللقاح وعترة التحدي استخدمت اكياس بيض طفيلي ال*Eimeria tenella* والمعزوله مسبقا في كلية الطب البيطري / جامعة بغداد (عتره بغداد 86) بشكل نقي وخال من التلوث بأي نوع اخر من الايميريا والمحفوظة بدرجة 4 م بمادة كرومات البوتاسيوم في احد مختبرات الطاقة الذرية العراقية. تم تنشيط وتكثير العترة النقية والمعزولة بواسطة تمريرها في افراخ اللحم بعمر يوم واحد حسب طريقة Ibrahim *et al.* [26] وطريقة Barwick *et al.* [27]. بعد اكمال

عملية التبويغ استخدم المحلول المشبع لتنقية اكياس البيض بطريقة التطويف [28] . ومن ثم تم تعقيم اكياس البيض بالاعتماد على الكثافة النوعية باستخدام محلول هايبوكلوريد الصوديوم بتركيز 6 % من مادة FAS حسب الطريقة التي وصفها Davis [29] . علقت اكياس البيض المعقمة باستخدام المحلول الملحي الوضيفي وبتركيز 10^5x1 كيس بيض/ مل , وزع في قناني معقمة ومعتمة ونضيفة سعة 100 مل, تم تهيئة جهاز التشعيع نوع Gamma-cell 220 الحاوي على عنصر الكوبلت 60 (Co^{60}) كمصدر لاشعه كاما من خلال خلية الاشعاع Gamma-cell 220 والتي تجهز اشعاعا بمعدل جرعه Dose rate قدره 31.56 كراى/دقيقة [30] شععت اكياس البيض بجرعتين اشعاعيتين 200 كراى و 300 كراى تقريبا للفترتين الزمنيتين 6.312 و9.312 دقائق على التوالي وتركت عينات اخرى دون تعرض للاشعاع لغرض المقارنه. فحصت حيوية اكياس البيض باستخدام طريقة Davis [29] في اخراج البويضات للدلاله على قابلية تحرير البويضات وقدرتها على الاخراج وقد تم استخدام محلول الاخراج المستخدم من قبل Gilbert *et al.* [31] وتم تكسيرها حسب Long [32].

لقحت جميع الافراخ بعمر 3 يوم بلقاح نيوكاسل B_1 بالرش وكذلك نيوكاسل La Sota بعمر 9 و16 و24 يوما بماء الشرب وبعمر 12 و19 يوما بلقاح كمبورو D 78 , جلبت اللقاحات من شركة الكندي لانتاج اللقاحات البيطرية.

قسمت قاعة التجربة التي مساحتها 5x3 مترالى6 اقسام كماياتي: اطوال الاكنان الثلاثة الاولى والثانية والثالثة 3.8x6.4م والاكنان الرابعة والخامسة والسادسة 3.8x5م مجهزه ب 12 ساحبة قطر 30 سم وحاضنات غازية ومحارير زئبقية واحده لكل كن ومصدر اناره مستمره واواني علف ومناهل يدوية ونشارة خشب بسمك 5 سم, وترك بحدود 1 متر على طول القاعة كممر خدمة.

تم اجراء القياسات والفحوصات الاتية:

تم وزن 25 فرخا بعمر 7 ايام بصوره فرادية من كل مجموعة واعيد الوزن اسبوعيا لغاية 35 يوما.

1. قياسات حجم خلايا الدم المرصوصه (PCV) من 10 عينات من مجموعة السيطرة C ومجموعة CIT . ثم بعمر 14 يوما من 10 عينات لجميع المجاميع عدا CIT . ثم بعمر 20 يوما من 10 عينات لمجموعة CIT . ثم بعمر 39 و46 من 10 عينات لجميع المجاميع وذلك بواسطة ال Microhematocrit وتم حساب المعدل لكل مجموعة [33] .
2. قتلت 5 أفراخ لمجموعتي C و CIT وتم فحص دليل الافه العيانية (LS) حسب طريقة Johnson and Reid [34] واعداد اكياس البيض في محتويات الاعورين بالغرام Oocyst per

gram (OPG) حسب طريقة Permin and Hansen [35] . اعيد القتل لجميع المجاميع في الاعمار 15 و20 و39 و47 و49 يوما.

3. أخذت عينات من الفرشة من خمسة مواقع ومزجت وتم قياس رطوبة الفرشة Litter(LM) moisture واعداد اكياس البيض من الفرشة Litter oocyst count (LOC) لجميع المجاميع. اعيد الفحص بعمر 15 و39 و 47 يوما . كذلك تم اجراء الفحص لجميع المجاميع عدا CIT بعمر 22 يوما ولمجموعة CIT وحدها بعمر 20 يوما وذلك حسب طريقة A.O.A.C. [36] و Long and Rowell [37].

4. تم اجراء فحص التحدي بعمر 40 يوما بتجريع 10^4x5 كيس بيضه بالحوصله مباشرة لكل فرخ وحساب نسبه الحماية حسب Lillehoj [38] . كذلك تم تسجيل الهلاكات بحساب عدد الافراخ النافعة في كل مجموعة بدءا من اليوم الخامس وحتى نهاية اليوم الثامن من التحدي [31] .

5. تم تسجيل العلامات السريرية للافراخ في المجاميع السته يوميا خلال مده التجربه البالغة 50 يوما.

استخدام اختبارا تحليل التباين ANOVA وفحص F الاحصائي لايجاد مستوى المعنوية للفروقات بين المعاملات واقل فرق معنويLSD لايجاد الفروق بين اي مجموعتين . اما نسبه الهلاكات فقد احتسبت باستخدام فحص مربع كاي (x^2) وقد اجريت التحاليل الاحصائية جميعا حسب المحمد وجماعته [39].

النتائج

فحص حيوية أكياس البيض المشعه:

اظهرت النتائج عند فحص اخراج البويغات (excystation) للدلاله على حيويتها بعد تعريض العالق لجرعتين اشعاعيتين مختلفتين200 و300 كراي, تقارباً بنسب الاخراج لبويغات أكياس البيض المشعة وكانت 85.3% و 82.2% على التوالي مع مقارنتها بالاكياس غير المشعة والتي بلغت نسبتها 88.7% .

العلامات السريرية:

لم تلاحظ اية علامات سريرية للاصابه بالايميريا تنيلا خلال الاسابيع الثلاثه الاولى من عمر الطير ولجميع المجاميع, في حين لوحظت علامات سريرية طفيفة تمثلت بالخمول البسيط ووجود البراز المدمم لبعض افراخ التجربة من المجموعهDW في نهاية الاسبوع الثالث والمجموعتين WF وCIT في الاسبوعين الرابع والخامس, بينما اظهرت كل من المجموعه CI

وSP بعض علامات الخمول البسيط والبراز المدمم لبعض الافراخ في الاسبوع الخامس, وبعدها لوحظ اختفاء العلامات السريرية في الاسبوع السادس ولجميع المجاميع. اما بعد اجراء فحص التحدي اظهرت مجموعة C أبتداء من اليوم الخامس بعد التحدي علامات سريرية واضحه تمثلت بالاسهال الدمي الحاد مع خمول وفقدان الشهية وتجمع الافراخ مع بعضها مع توقفها عن تناول العلف والماء وخشونة الريش وتهدل الاجنحه وشحوب العرف والدلايات اذ استمرت هذه العلامات حتى اليوم السابع ثم بدأت بالتضاؤل حتى اليوم الحادي عشر من التحدي, حيث استطاعت الافراخ غير الهالكه من عودتها لتناول العلف والماء مع تحسن حالتها العامه تدريجيا,وقد لوحظت علامات طفيفة على بقية المجاميع الملقحه تمثلت بالخمول البسيط بعد اليوم الخامس من التحدي مع براز مدمم في حالات فردية .

معدل الاوزان

عند قياس معدل اوزان خمسة وعشرين فرخا من كل مجموعه اسبوعيا لم تسجل اختلافات مهمه احصائيا بين مجموعه C والمجاميع الباقية في الاسابيع الثلاثه الاولى من عمر الطير. وفي الاسبوع الرابع سجلت المجموعة SP فقط فرقا مهما احصائيا ($P<0.05$) عن مجموعة السيطره وفي الاسبوع الخامس والسادس سجلت المجاميعCI وSP وCIT فرقا مهما احصائيا ($P<0.05$) عن مجموعة السيطرة وفي الاسبوع السادس سجلت المجاميع DW وCI وSP وCIT , فرقا مهما احصائيا ($P<0.05$) عن مجموعة السيطرة, وبعد اجراء فحص التحدي لم تظهر المجموعتان WF و DW فرقا معنويا وعلى المستوى نفسه عن مجموعة
السيطرة , بينما اظهرت المجاميع CI وSP وCIT فرقا معنويا وعلى المستوى نفسه عن مجموعة السيطرة جدول (1) .

الافة العيانية

أظهرت نتائج معدلات دليل الافه العيانية في اليوم السابع بعد التمنيع عدم ظهور اية افه عيانيه ولجميع المجاميع, بينما اظهرت النتائج قبل فحص التحدي وجود افه مرضيه عيانية بسيطة في كل المجاميع عدا مجموعة السيطرة التي لم تظهر افه عيانية, وقد بينت النتائج قبل فحص التحدي وجود فروقات معنوية($P<0.05$) للمجموعتين CITوWF على حساب بقيةالمجاميع, اما بعد فحص التحدي فقد كانت الافات العيانية واضحة جداً في مجموعة السيطرة التي سجلت فرقا معنوياً ($P<0.05$), في حين لم تظهر المجموعتان SPوCI اية افات عيانية,وسجلت المجاميع الباقية افات عيانية تراوحت بين 0.6-1.6(جدول2). وعند مقارنة النتائج قبل وبعد فحص التحدي لكل مجموعة,

أظهرت النتائج عدم وجود فرق احصائي مهم في المجاميع كافة عدا المجوعة C حيث سجلت فرقا معنويا مهما (جدول2).

حجم خلايا الدم الحمر المرصوصة (PCV):

بينت النتائج بعد ستة ايام من التمنيع عدم ظهور فروقات معنوية بين المجاميع الخمس ومجموعة السيطرة, وقد كانت النتائج قبل فحص التحدي متشابهة ايضا اذ لم يظهر فرق معنوي بين المجاميع الخمس ومجموعة السيطرة, ولكن ظهرفرق معنوي مهم احصائياً ($P<0.05$) بعد فحص التحدي بين مجموعة السيطرة والمجاميع الخمس الباقية اذ سجلت مجموعة C هبوطاً واضحاً في معدلات PCV وعند مقارنة النتائج بعد التمنيع وقبل فحص التحدي لم يظهر فرق معنوى بينهما وبين النتائج التي تم الحصول عليها بعد فحص التحدي للمجاميع الست عدا مجموعة السيطرة التي سجلت هبوطا ملحوظاً (جدول 3).

نسبة الرطوبة في الفرشة :

أظهرت نسب رطوبة الفرشة تقاربا في نسبها المئوية لكل المجاميع , وقد كانت النتائج تتزايد بمرور الوقت حيث ظهرت اقل نسب للرطوبة بعد اسبوع واحد من اللقاح واظهرت النتائج اعلى نسب للرطوبة بعد اسبوع من التحدي ولجميع المجاميع (جدول 4).

معدل اكياس البيض في الفرشه:

كانت معدلات اكياس البيض في الغرام الواحد من الفرشة متقاربة في نسبها وذلك بعد اسبوع من اللقاح وكذلك قبل فحص التحدي, ولكنها كانت مختلفة بعد اسبوع من التحدي (جدول 5).

معدل اكياس البيض في محتويات الأعورين:

عند فحص الاعورين بعد سبعة ايام من التمنيع لم تظهر اية فروقات بين المجاميع الخمس ومجموعة السيطرة, ولكن قبل فحص التحدي اظهرت المجموعة CIT فرقا معنويا على المجموعة SP, وتفوقت المجموعةSPعلى المجموعتينDWوCاللتين تفوقتا على المجموعةWF،بينما سجلت المجموعة CI اقل اعداد من اكياس البيض وبذلك فقد سجلت فرقا معنويا عن جميع المجاميع, وبعد فحص التحدي تفوقت المجموعات DW وCIT على المجاميع WFو CI وC وSP التي اظهرت تقاربا معنويا, بينما سجلت المجموعة C تفوقا على جميع المجاميع (جدول 6).

نسبة الهلاك:

سجلت المجموعة C نسبة هلاكات بلغت 10% حتى اليوم الثامن من التحدي, بينما سجلت المجموعة WF نسبة بلغت 1.05% بينما سجلت المجموعة DW نسبة 0.52% وسجلت المجموعة CIT نسبة 2.9% , بينما لم تسجل المجموعتان CI و SP أية هلاكات وكانت نسبتهما 0% .

وقد أظهرت نتائج الدراسة وجود فرق معنوي ($P<0.05$) في نسبة الهلاكات في المجموعة C مقارنه بمجاميع التجربة .

جدول (1) : معدلات أوزان الأفراخ لمدة التجربة / غم

العمر أسبوع	C	WF	DW	CI	SP	CIT
1	1.9 109A	1.6 105A	1.9 109A	1.8 100A	1.7 100A	2.0 106A
2	4.0 226 A	4.5 225A	7.4 225A	5.0 241A	8.1 234A	5.1 234A
3	8.8 440A	6.7 446A	8.4 454A	10.2 464A	9.1 458A	9.1 457A
4	11.8 646AB	14.2 671BC	13.2 628A	15.1 625A	14.4 689C	13.8 667ABC
5	20.4 858AB	23.0 843A	22.4 867ABC	26.5 927CD	26.7 924BCD	21.0 941D
6	27.4 1059A	18.4 1055A	22.0 1163B	21.3 1140B	29.6 1194B	19.0 1185B
7	34.9 1350A	37.5 1339A	34.7 1382A	36.2 1498B	34.5 1524B	23.4 1542B

الأرقام تمثل المعدل الخطأ القياسي. n=25 فرخا لكل مجموعة 0 يوجد فرق إحصائي مهم ($P<0.05$) بين الاحرف المختلفة افقيا. CI; crop inoculation = SP; spray = DW; drinking water = WF ; with feed = C ; control = CIT Crop inoculation twice =

جدول (2) : الآفة العيانية للمجاميع بعد التلقيح وقبل وبعد التحدي.

CIT	SP	CI	DW	WF	C	العمر اسبوع
0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	أسبوع بعد اللقاح
0.67 1.6 Ba	0.24 0.4 Ab	0.24 0.4 Aa	0.37 0.8 Aa	0.67 1.6 Ba	0 Aa	قبل التحدي
0.67 1.6 Bb	0 Ab	0 Aa	0.58 1.2 Ba	0.24 0.6 ABb	0.24 3.6Cb	بعد التحدي

الارقام تمثل المعدل الخطأ القياسي. n=5 فرخا لكل مجموعة. الاحرف الكبيرة المختلفة تعني وجود فرق مهم احصائيا ($P<0.05$) بين المعاملات افقيا. الاحرف الصغير المختلفة تعني وجود فرق مهم احصائيا ($P<0.05$) لكل معاملة عموديا. spray = SP; crop inoculation = CI; drinking water = DW; with feed = WF ; control = C
Crop inoculation twice = CIT

جدول (3) : حجم كريات الدم الحمر المرصوصة للمجاميع بعد اللقاح وقبل وبعد التحدي

CIT	SP	CI	DW	WF	C	العمر اسبوع
0.74 30.5 Aa	0.72 31.7 Aa	0.78 30.3 Aa	1.1 30.6 Aa	0.77 30.6 Aa	0.89 30.6 Aa	اسبوع بعد اللقاح
0.61 29.6 Aa	0.73 30.8 Aa	0.53 31.3 Aa	0.89 30.7 Aa	0.84 2.93 Aa	0.97 30.5 Aa	قبل التحدي
0.68 29.5 Ba	0.81 30.6 Ba	0.39 29.4 Ba	0.53 30.2 Ba	0.90 28.7 Ba	0.90 24.2 Ab	بعد التحدي

الارقام تمثل المعدل الخطأ القياسي. n=10 فرخا لكل مجموعة. الاحرف الكبيرة المختلفة تعني وجود فرق مهم احصائيا ($P<0.05$) بين المعاملات افقيا. الاحرف الصغير المختلفة تعني وجود فرق مهم احصائيا ($P<0.05$) لكل معاملة عموديا. spray = SP; crop inoculation = CI; drinking water = DW; with feed = WF ; control = C
.Crop inoculation twice = CIT

جدول (4) : النسبة المئوية لرطوبة الفرشة بعد اللقاح وقبل وبعد التحدي.

CIT	SP	CI	DW	WF	C	العمر اسبوع
31	29	30	28	26	25	اسبوع بعد اللقاح
43	40	44	42	41	42	قبل التحدي
56	54	51	52	50	53	بعد التحدي

n = 5 مواقع مختلفة من الفرشة تمزج مع بعضها (pooled sample) .

جدول (5) : اعداد اكياس البيض في الغرام الواحد من الفرشة .

CIT	SP	CI	DW	WF	C	العمر اسبوع
0	0	0	0	0	0	اسبوع بعد اللقاح
2.28	1.60	3.30	1.55	1.34	0.13	قبل التحدي
12.74	128.5	118.3	36.0	60.3	1.34	بعد التحدي

n =5 مواقع مختلفة من الفرشة تمزج مع بعضها (pooled sample) .

spray = SP; crop inoculation = CI; drinking water = DW; with feed = WF ; control = C

Crop inoculation twice = CIT

جدول (6) : أعداد أكياس البيض في محتويات الاعورين لجميع المجاميع بعد اللقاح وقبل وبعد التحدي.

العمر أسبوع	C	WF	DW	CI	SP	CIT
أسبوع بعد اللقاح	0	0	0	0	0	0
قبل التحدي	46700 642 C	37800 553 B	42900 554 C	24900 291 A	94600 692 D	106500 329 E
بعد التحدي	1680000 45276 C	108900 1198 A	188400 907 B	29400 615 A	116100 1512 A	299200 1190 B

الارقام تمثل المعدل الخطأ القياسي. n=5 فرخا لكل مجموعة. الاحرف الكبيرة المختلفة تعني وجود فرق مهم احصائيا ($P<0.05$) بين المعاملات افقيا.

spray = SP; crop inoculation = CI; drinking water = DW; with feed = WF ; control = C
Crop inoculation twice = CIT

المناقشة

عند اجراء الفحص المختبري لحيوية اكياس البيض المشععة بجرعتين مختليفتين 200 و300 كراي لوحظ تقارب نسبة الاخراج Excystation بينها وبين اكياس البيض غيرالمشععة , اذا يدل على احتفاظها بقابليتها على الاخراج والتي كانت فعاله active من قبل البويغات المتحررة عند توفير الحرارة الملائمة والتربسين واملاح الصفراء. واتفقت هذه النتائج مع ما توصلت اليه شوقي [24] عند استخدام الجرعة الاشعاعية 200و 300 كراي والى ما توصل اليه الباحثون Jenkins [23] *et al.* مستخدمين الجرع الاشعاعية 300,250,200 كراي عند الكشف عن حيوية اكياس البيض المشععة. في حين كان الاعتقاد من قبل الباحثين Marjankova and Stejskai [40] بوجود اختزال في عدد البويغات المتحررة من اكياس البيض المشععه بالجرعة 200 كراي مع تأثير قابليتها على اختراق الخلايا الظهارية.

عند مراقبة العلامات السريرية لم تشاهد اية علامات سريرية للاصابة بالايميريا تنيلا في الاسبوع الاول والثاني بعد اعطاء اللقاح, ويمكن تفسير ذلك في ان اكياس البيض المشععه بجرعة 200 كراي قد فقدت امراضيتها فضلا عن اكياس البيض المشععه بجرعة 300 كراي وهذا ينسجم مع ما تصل اليه القشطيني [41] من ان امراضية اكياس البيض المشععه تقل بزيادة جرعة الاشعاع والذي اكد عدم امراضية هذه الاكياس حتى عند اعطائها بجرعة 10^4x5 كيس بيض للفرخ الواحد.

يمكن تفسير ظهوربعض علأمات الخمول البسيط ووجود البراز المدمم لبعض الافراخ وذلك في نهاية الاسبوع الثالث للمجموعة الثالثة DW بسبب الجرعة التي اعطيت للطيور كانت غير متجامسه اذ يمكن ان يكون بعض الطيور قد تناول اعداد كبيرة جدا من اكياس البيض وبعضها الاخر قد اخذ اعداد اقل من المجموعة المعطاة لكل طير . وهذا ينسجم مع ما توصل اليه Shirley [42] من ان اعطاء اللقاح عن طريق ماء الشرب لايضمن جرعة متساوية لجميع الطيور .وعلية فقد يكون للكميات الكبيرة التي اخذتها بعض الطيور من البيض تأثير في انتاج اعداد اكبر من اكياس البيض والتي بدورها تعود الى الفرشة لتصيب الطيور مرة اخرى وبذلك فقد ظهرت علامات البراز المدمم لهذه المجموع قبل المجاميع الاخرى ولبعض الطيور التي لم تحصل على جرع كافية توفر لها حماية جيدة ضد ظهور بعض العلامات السريرية فبقيت حساسة Suscepteble للاصابة على عكس الطيور التي اخذت الجرعة المتكاملة التي وفرت لها حماية تامة ضد ظهور العلامات السريرية.

وقد يعود ظهور البراز المدمم لعدد من الافراخ وذلك في جميع المجاميع الملحقة الى وصول العدد الكافي من اكياس البيض المتواجدة في الفرشة والتي تعود ثانية لاصابة الافراخ محدثة افات عيانية بسيطه في اعوري الطيور التي تولدت لديها مناعة وقائية جزئية [43] , كذلك يمكن تفسير هذه الظاهره حول تولد استجابة مناعة عالية تمثلت بتكون فرط الحساسية الاجل (DTH) Delayed Type Hypersensitivity والمؤدي الى حدوث البراز المدمم الناتج عن النزف الحاصل في نسج الاعور المتحطم من اثر فرط الحساسية [22] . في حين لم تلاحظ علامات البراز المدمم لدى بقية الطيور الملحقة وذلك لاكتسابها استجابة مناعية وقائية كافية لمنع حدوث الافات العيانية , ومن خلال التفسيرين يمكن ان نستنتج ان هناك عملية تقويه مستمرة للاستجابة المناعية لدى الطيور الممنعة ناتجة عن التحفيزالمستمرمن خلال اعادة الاصابة الطفيلية الكامنه المستمرة[44] ، اما مجموعة SP فقد يعود التاخير الى ان جميع الطيور في الواقع اخذت جرعة اقل من المقرروذلك لان الافراخ كانت قد رشت وهي مرباه على الفرشة مواجهة ضروف جديدة من اجل اعادة الاصابة من الناحية رطوبة الفرشة وكمية الاوكسجين [45] ,فمن المؤكد ان قسما من اكياس البيض التي لم تستلمها الافراخ قد سقطت على الفرشة وبذلك فقد هيأت كما في اكياس البيض التي استلمتها الافراخ موخراً وبصورة بطيئة Trickle infection من الفرشة. وهذا يتفق مع ما توصل اليه العطار وجماعته [41] من ان اعطاء اكياس بيض مشععة بجرع 200 و 250 و 300 كراي لايؤدي الى تكوين علامات ظاهرةعلى الطيور ولكن لمدة اسبوعين مع اللقاح كذلك انسجم مع Williams [46] الذي اكد استخدام لقاح الكوكسيديا المضعف يعطي علامات سريرية لبعض الافراخ بعد 26-40 يوما. اما

أختفاء العلامات السريرية في الاسبوع السادس فيعود الى ان الافراخ قد تكونت لديهامناعة وقائية كافية ضد العدد المتواجد في الطير او في الفرشة وهذا ما أكده فحص التحدي فيما بعد.

اما عند اجراء فحص التحدي فأن العلامات السريرية لم تكن واضحة في المجاميع الملحقة على عكس مجموعة السيطرة التي ظهرت فيها علامات الخمول والاسهال الدمي وهذا يؤكد المناعة الوقائية التي حصلت لجميع المجاميع الملحقة وبمختلف الطرائق عدا مجموعة السيطرة .

يتضح من هذه التجربة عدم تأثير اوزان المجاميع الملحقة طوال مدة التلقيح , بل على العكس من ذلك تم زيادة وزنية مهمه احصائياً ($P<0.05$) لصالح المجاميع الملحقة عن مجموعة السيطرة غير الملحقة, وهذا يتفق مع ما لاحظه الباحثان Long and Millard [47] بعد ستة اسابيع من تلقيح الافراخ باستخدام العترة المضعفه(من خلال التطبيع الجنيني) للايميريا تنيلا, ممكن ان يعزى ذلك استخدام اكياس االبيض المضعفة بالجرعة الشعاعية 200 كراي والتي لم ينتج عن استخدامها بعمر 8 أيام اية تأثيرات مرضية, في حين استطاعت ان تحفز استجابة مناعية وقائية كافية لحماية وزن الطير من التأثير بالاصابة الطفيلية الكامنه الناتجة عن تناول اكياس البيض المتواجد في الفرشة ,ويعتقد بعض الباحثين ان الزيادة الوزنية ممكن ان تكون نتيجة الاصابة الطفيلية المؤدية الى زيادة استهلاك العلف من قبل الطير[48] وممكن ان تكون نتيجة النمو التعويضي الحاصل لدى الطيور الممنعة باعمار مبكرة [49] .

قد يعود ظهور زيادة وزنية في مجاميع CI و SP و CIT في الاسبوع الخامس الى تجانس الجرعة التي حصلت عليها الافراخ على عكس مجموعتي DW و WF والتي قد تكون قد ادت الى عدم تجانس الجرعة بحيث حصلت بعض الطيور على جرعة قليلة والبعض الاخر على جرعة عالية من اكياس البيض والذي قد سبب عدم توفير طرح متجانس لاكياس البيض على الفرشة والذي نتجت عنه اعادة الاصابة الطفيلية التي ادت الى الزيادة الوزنية , وقد تعود الزيادة التي حققها جميع المجاميع عدا مجموعة WF عن مجموعة السيطرة وذلك في الاسبوع السادس الى اختفاء العلامات السريرية ولجميع المجاميع مما ينتج عنه النمو التعويضي او زيادة الاستهلاك العلفي للافراخ نتيجة الاصابة الطفيلية المستمرة .

اما بعد التحدي فيعود ظهور الزيادة الوزنية في مجاميع CI و SP و CIT عن مجموعة السيطرة الى المناعة الوقائية التي تكونت في هذه المجاميع والتي منعت الافراخ ضد نقصان الوزن بعد التحدي اذ استمرت الزيادة الوزنية المتحققة في هذه المجاميع قبل التحدى والذي قد يعود الى تجانس الجرعة في هذه الافراخ. على عكس مجموعتيDW و WF اللتين قد تكونان وفرتا حماية

ضد نقصان الوزن لبعض الطيور دون الاخرى في المجموعة الواحدة نفسها رغم ان مجموعة DW قد حققت زيادة وزنية عن مجموعة السيطرة ولكنها زيادة معنوية بمعنى انها حافظت على الزيادة التي حققتها قبل التحدي ولكنها بعد التحدي لم تكن معنوية.

يمكن تفسير عدم ظهور أية افة عيانية بعد 7 أيام من التلقيح وذلك لعدم قدرة اكياس البيض المشععة بجرعة 200 كراي على احداث الافات العيانية حتى لو اعطيت بجرعة 50.000 كيس بيض لكل فرخ [50] فضلا عن الجرعة المستخدمة في الدراسة الحالية وهي 5000 كيس بيض لكل فرخ, ويفسر ذلك بأن الجرعة 200 كراي قد أثرت على معظم اكياس البيض مما جعل غالبية البويغات المتحررة منها غير قادرة على اكمال مراحلها التطورية اللاحقة بعد اختراقها لخلايا الامعاء وذلك قد يكون بسبب تأثير بعض الانزيمات الضرورية لاتمام تلك المراحل [51] .

اما وجود بعض الافات العيانية قبل التحدي وفي بعض الطيور ولجميع المجاميع عدا مجموعة السيطرة فقد يعود لوجود الاصابة المستمرة من العترة اللقاحية فضلا عن تكون عتر محلية من الفرشة والتي تنجح في اصابة الافراخ وتحافظ وتقوي مناعة الطير باستمرار[5] وقد سجلت مجموعةWF ومجموعة CIT فرقا معنويا في شدة الافة(1.6) ولكنة لم يكن تاثير مهما من الناحية السريرية.

ان اختلاف شدة الافات العيانية بين المجاميع بعد فحص التحدي يمكن ان يعزى الى نتائج كل طريقة في التلقيح على حده, فبالرغم من ان جميع المجاميع سجلت فرقا معنويا مهما ($P<0.05$) عن مجموعة السيطرة والذي اكد تولد المقاومة المناعية لجميع المجاميع الملحقة الا انه كانت هناك فروقات معنوية بين مجاميع التلقيح أيضاً.

ويعد عدم الحصول على اية آفة عيانية في مجموعتي CI وSP من احسن النتائج التي تم التوصل اليها في البحث ويمكن تفسير ذلك الى ان المناعة التي تكونت لدى هذه الافراخ هي مناعة بدرجة عالية والتي تمثلت بأعطاء الجرعة المثالية وهي 5000 كيس بيض مشع في مجموعة CI , وهذه الجرعة قد سمحت للافراخ بالاصابة التدريجية Trickle infection والتي تغلبت على التأثير المميت على اكياس البيض وحافظت على الحيوية لبعض اكياس البيض [52] .

اما طريقة الرش التي اعتمدت ايضا في البحث فقد اعطت احسن نتيجه وهي صفر للافة العيانية lesion score فيمكن تفسير النتيجة في ان الجرعة التي استلمتها الافراخ كانت ايضا جرعة متجانسه الى حد ما [53] اذ ان اكياس البيض التي من الممكن ان ترش على العين ان تمر عبر القناة الدمعية الانفية nasolachrymal duct لتصل الى الامعاء خلال التجويف الشدقي buccal cavity

. وكذلك يمكن للافراخ ان تستلم اعداداً من اكياس البيض عن طريق تسوية الافراخ لريشها بعد ان تبلل self-preening والتي يمكن ان تشجع سلوكها باضافة بعض الصبغات [54] . ومن محاسن هذه الطريقة عدم الاحتياج للعلاج الروتيني بالامبروليوم لانها ستقلل التفاعل بعد التلقيح Post-vaccinal reacion بصورة كبيرة [55] .

اما حدوث الافات العيانية البسيطة في المجاميع الباقية والتي سجلت 0.6 LS للـWF و1.2للـDW و1.6 للـCIT والتي سجلت جميعها فروقات معنوية عن مجموعة السيطرة فيثبت ان المناعة التي تكونت لدى الافراخ كلها كانت عالية ضد التحدي اذ لم يسجل فرق معنوي بين مجموعتي CI و SP ومجموعةWF . اما مجموعة WF فلم تسجل فرقا معنويا عن مجموعتيDW و CIT وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه القشطيني [50] من حدوث افات عيانية بسيطة جداً بعد التحدي في المجاميع الملحقة.

وقد يعود عدم ظهور فرق معنوي بين قيم الافة العيانية قبل وبعد التحدي الى وجود التخدش المستمر في اعادة الاصابة للعترة اللقاحية وكذلك العترة المحلية المتكونه في الفرشة قبل التحدي والتي وفرت وبتخدشها البسيط مناعة عالية جدا في الطيور ضد التحدي.

ان عدم ظهور فروقات معنوية في حجم خلايا الدم المرصوصة للمجاميع الملقحة مقارنة مع مجوعة السيطرة وذلك بعد اسبوع من اللقاح يبين عدم تأثير اللقاح على الحالة الصحية للطير وعدم وجود أي نزوفات ظاهرة وهذا يتفق مع ماتوصل اليه [50] ولاسيما انه استخدم جرعا اعلى من اكياس البيض في التلقيح. اما قبل التحدي فان عدم ظهور فروقات معنوية يؤكدالحالة الصحية الجيدة للطير , ولم تظهر بعد التحدي أية اختلافات مهمة احصائياً بين معدلات حجوم الخلايا الحمر المرصوصة لافراخ المجاميع الملحقة مقارنه باقيام مجموعة السيطرة غير الملحقة ($P<0.05$) , ويعزى ذلك الى شدة النزف الدموي الحاصل نتيجة التحطم النسجي الشديد للاعورين [56] ولكفاءة التلقيح لدى الافراخ الملقحة . ويعد عدم ظهور فروقات معنوية في المجاميع الملقحة طيلة فترة التجربة (أي بعد اللقاح وقبل وبعد التحدي) من النتائج الممتازة التي تم الحصول عليها اذا ما قورنت بمجموعة السيطرة.

اما نسبة الرطوبة في الفرشة فقد ظهرت متقاربة في الاسبوع الاول بعد اللقاح ولجميع المجاميع وهو شيء طبيعي اذ ان جميع المجاميع وضعت في ظروف متشابهة من حيث تجهيز الملء والعلف ووضع الافراخ, ومن الطبيعي ان تزداد نسبة الرطوبة في الفرشة بمرور الوقت وذلك لزيادة فضلات الطيور وازدياد احتمال سقوط الماء من المناهل.

اما عند ظهور اكياس بيض في الفرشة بعد اسبوع من اللقاح فيؤكد خلو الفرشة من اية اكياس للبيض وذلك لان القاعة التي نفذت فيها التجربة كانت قاعة جديدة البناء ولم تشهد تربية الافراخ سابقا اضافة الى ان الجرعة المستخدمة لمختلف الطيور كانت قليلة فضلا عن انها اكياس بيض مضعفة بالاشعاع.

اما قبل التحدي فقد يعود وجود بعض اكياس البيض في الفرشة الى الاصابة الطبيعية التي قد تكونت اثناء فترة التربية والتي كانت في صالح اللقاح بالنسبة للمجاميع الاخرى [5] .

اما بعد التحدي فقد يعود تسجيل المجاميع المختلفة اعداداً كبيرة من اكياس البيض المتواجدة الى الأصابة الطبيعية في الحقل فضلا عن العترة اللقاحية, كما ان الاعداد الكبيرة من اكياس البيض قد يعود الى تعدد الانواع والتي لم تشخص حقلياولكنها كانت كافية لحماية الطير ضد التحدي, وعند مقارنة هذه الاعداد مع مجموعة السيطرة تبين ان مجموعة السيطرة سجلت اقل الاعداد وذلك لانها كانت اقل عددا قبل التحدي فضلا عن انها كانت اقل تكوينا لاكياس البيض الطبيعية في الفرشة , كما يمكن ان يكون لعامل الرطوبة دور مؤثر في ازدياد اعداد اكياس البيض في الفرشة , اذ من المعروف ان ارتفاع نسبة الرطوبة يزيد من اصابة واعداد وتبوغ اكياس البيض.

اما عدم ظهور اكياس البيض في محتويات الاعورين بعد سبعة ايام من التمنيع فيفسر بان غالبية اكياس البيض المشعة بجرعة 200كراي لم تتمكن من اكمال دورة حياتها وان قسما منها قد يكون قليلا جداً استطاع ان يكمل دورة حياته, فقد أكد Jenkins *et al.* [22] ان التشعيع يؤدي الى توقف تطور الطفيلي عند مرحلة ما داخل جسم المضيف وقد لوحظ ان هذا التوقف يحدث في مرحلة الجيل الاول من الاقسومات وبالتالي عدم القدرة على اتمام دورة الحياة وتكون اكياس بيض جديدة. ويتفق عدم الحصول على اكياس بيض قي محتويات الاعورين مع القشطيني [50] و Ibrahim *et al.*, [26] ولاسيما انهم قد استخدموا 50.000 كيس بيض/فرخ .

ان وجود عدد قليل من اكياس البيض في محتويات الاعورين لمجموعة CI قبل التحدي يشير الى المناعة القوية التي تكونت لدى الافراخ والتي حقنت بالجرعة المثالية والمتساوية ولكل افراخ المجموعة والذي ربما وفر حماية جيدة من اعادة الاصابة للافراخ فضلاً عن العترة المتكونة طبيعيا في الفرشة . وهذا ينسجم مع Norton & Joyner [57] من ان التعرض المستمر للاصابة بالايميريا تنيلا يكون امينا ومؤثراً وعمليا ويقدم مناعة جيدة ضد الاصابة بالعترة نفسها. وكذلك لوجود اعداد كبيرة من اكياس البيض في الاعورين لمختلف المجاميع نتيجة لاعادة الاصابة والذي اتفق مع Long *et al.* [58] من ان لاعادة الاصابة دوراً مهما في رفع المستوى المناعي.

وقد يعود وجود اعداد لابأس بها من اكياس البيض في محتويات الاعورين لمجموعة السيطرة الى تكون العترة في الفرشة طبيعيا او بسبب التلوث الذي يمكن ان يكون قد حصل من اكنان اخرى حتى ولو بالانتقال بالهواء [11] .

واما بعد التحدي فيمكن تفسير ان اعلى عدد لاكياس البيض كان في مجموعة السيطرة C وذلك لعدم وجود مناعة وقائية قوية ضد الاصابة, بينما سجلت المجاميع WF و CI و SP اعداداً متقاربة من اكياس البيض اذ لم تسجل فروقات احصائية ($p<0.05$) فيما بينها ولكنها سجلت فرقا عن مجموعتي DW و CIT وبذلك يبدو ان المجاميع WF و CI و SP كانت اكثر توفيراً للمناعة الوقائية للافراخ ضد التحدي من مجاميع DW و CIT . ولكن جميع المجاميع سجلت فرقا احصائيا مهما ($P<0.05$) عن مجموعة السيطرة وبذلك فان جميع طرائق اعطاء اللقاح كانت فعالة في توفير الحماية للطيور ضد التحدي.

واما بالنسبة للحماية المتولدة فقد سجلت مجموعة CI أعلى النسب ثم تلتها مجموعة SP وهو امر طبيعي بعد النتائج التي حققتها هاتان المجموعتان من قلة الافة العيانية وحماية وزن الطيور من النقص بعد التحدي, وتعد المجاميع الباقية DW و WF و CIT أقل في نسبة الحماية ولكنها تعتبر جيدة جداً وبذلك فقد اثبتت جميع الطرائق كفاءتها في حماية الطير ضد التحدي.

وقد جاءت هذه النتائج من حيث الحماية التي وفرتها رغم اختلاف طرائق الاعطاء مماثلة للقاحات العالمية المنتشرة والتي يمكن ان تعطي باكثر من طريقة مثل Coccivac-B المنتج من قبل الشركة Schering plaugh Animal Health (USA) الذي يعطى باربعة طرائق وهي الرش والتقطير بالعين وعن طريق الماء وعن طريق العلف. أو الـ Livacox T المنتج من قبل شركة Biopharm (Czech Republic) الذي يعطي عن طريق التقطير بالعين اوالماء وكذلك Paracox المنتج من Schering-plough Animal Health (UK) الذي يعطي عن طريق الماء أو العلف.

لقد سجلت مجموعة السيطرة فرقا معنويا ($P<0.05$) عن باقي المجاميع في نسبة الهلاكات والتي بلغت 10% , وهي النسبة التي قد تكون اقل من الطبيعي ولكنها يمكن ان تفسر في هذه المجموعة على انها قد تعرضت للاصابة الطبيعية كما ظهر في اعداد اكياس البيض في محتويات الاعورين والتي بلغت نسبة لاباس بها والتي ربما وفرت حماية جزئية ضد هلاك الطير. اضافة الى ان النسبة الحالية التي تم الحصول عليها هي بحدود النسبة المسجلة عالميا والتي بلغت 6-10% [59].

ويعد الحصول على نسبة هلاكات قليلة ولجميع المجاميع الملحقة والتي تراوحت بين 0% لمجموعتي SP و CI و2.9 %لمجموعة CIT من النتائج الجيدة التي وفرها اللقاح المضعف بالتشعيع في حماية الافراخ من الهلاك واكسابها مناعة وقائية جيدة. وقد اتفقت هذه النتائج مع لقشطيني [50] والعطار وجماعته [41] ، رغم اختلاف اعداد اكياس البيض المشعة وطرائق الاعطاء.

وقد اكد كل من Ruff & Bacon [60] و Conway *et al.* [61] و William &[5] Catchopleأن المقاييس المناعية لاترتبط فيما بينها دائماً, فمثلا الحماية ضد فقدان الوزن لاترتبط مع مقايس الافة التي تحدث في الافراخ الملحقة مقارنة بمجاميع السيطرة والذي يمكن ان تكون بسبب التنشيط المختلف للجهاز المناعي المعقد جداً في الدواجن او تحديد الجزء المسؤول عن هذا التنشيط المناعي [62] .

اما مجموعة CIT فقد اظهرت حماية جيدة ضد فقدان الوزن وكذلك سجلت نتائج مقارنة للمجاميع الملقحة الاخرى في نسب الهلاك وتعتبر طريقة جيدة ولكنها قد تعدغير مرغوب بها حقليا.
لقد اجريت التجربة في ظروف جوية موأتية لحدوث الاصابة بداء الاكريات وذلك في شهري كانون الاول وكانون الثاني وفي ظروف حقلية متكاملة واعداد من الطيورتشابه الاعداد الحقلية وبذلك فقد اختلفت عن معظم الدراسات السابقة التي ربيت فيها اعداد قليلة من الطيور فضلا عن التربية في الاقفاص، وعند مقارنة نتائج هذه التجربة مع التجارب السابقة التي استخدمت فيها عتر الايميريا المضعفة وغير المضعفة تبدو نتائج مشجعة جدا ، اذ استخدمت في معظم التجارب الاخرى اساليب خاصة للسيطرة على الاصابة المتكررة من الفرشة ومنها ترطيب الفرشة [63] واستخدم بعض مضادات الاكريات [64] والتي تساعد على منع تطور العلأمات السريرية او حصول الهلأكات فضلا عن قلة الزيادة الوزنية خلال مدة التلقيح في حين لم تستخدم اية وسائل مساعدة في هذه الدراسة ، وكانت نتائجها جيدة جدا مقارنة بالدراسات السابقة . كما تمتاز طريقة التلقيح باستعمال الاكياس المشعة بامكانية استخدام جرعة فعالة لها مدى واسع [23] اذ من الممكن استخدام اعداد كبيرة او قليلة من اكياس البيض وحسب ما تتطلبه ظروف التربية ، في حين يتوجب استخدام الجرعة الاعلى لاكياس البيض في حالة استخدام طريقة التلقيح بالعتر المبكرة والجرعة ذات الحد الادنى في حالة استخدام طريقة التلقيح بالعترة غير المضعفة .

كانت كمية الادوية المستوردة من قبل الشركة العامة للبيطرة منذ عام 1998 بكلفة 12637100000 دينار باستثناء ما يستورده القطاع الخاص[65].

لذلك فان النتائج تبدو مشجعة اقتصادية من خلال عدم تأثر اوزان الأفراخ الملقحة سلبا وعدم تسجيل نسب هلاكات عالية وبذلك يمكن الاستغناء عن المبالغ الباهظة المصروفة في وقاية وعلاج الاكريات ، هنالك بعض الدراسات الحديثة اكدت على وجود اختلافات مستضدية بين انواع الجنس الواحد من *Eimeria* وتحديدا في نوعي *E. tenella* و *E.* [66] وهذه الاختلافات تجعل من العتر المضعفة بالطرائق التقليدية كتمريرها في اجنة البيض غير مهمة ولكن تجعل من التضعيف بالتشعيع مفيدة وعملية بسبب امكانية تشعيع اكياس البيض المعزولة ولعدة انواع ومن اي حقل بشكل سريع وامين واعادة استعمالها كلقاح مضعف في الحقل نفسه الذي عزلت منه.

كذلك تبدو النتائج مشجعة من حيث ان للّقاح عدة طرائق للاستخدام وهو امر مهم جدا من الناحية الحقلية ، كما ان طريقة تحضير وانتاج اللقاح تعد سهلة وامينة ويمكن استخدامها وبصورة واسعة لحماية الدجاج في قطرنا في ظروف الحصار الجائر.

يستنتج من هذه الدراسة ان اللقاح المنتج محليا لايميريا تينيلا قد وفر حماية جيدة جدا ضد التحدي بنفس النوع وكانت اعلى حماية لطريقة الاعطاء بالحوصلة تلتها مجموعتي العلف والرش ومن ثم ماء الشرب واخيرا في الحوصلة مرتين.

المصادر

1. Monuz, A. (1993). Will we get rid of the disease ? Misset Poult. world, Coccidiostat special, 16-18.
2. Mc Dougald, L.R. (1992). Coccidiosis vaccines for broilers. Brailer industry. May. 1992.
3. Joyner, L.P. (1981). The chemotherapy of prdtozoal infection of veterinary importance. J. Protozoo. 28: 17-19.
4. Reid, W.M. (1990). History of Avian medicine in the united States. Avian. Dis. 34: 509-525.
5. Williams, R.B. and Catchpole. J. (2000). Anew protocol for achallenge test to assess the efficacy of live anticoccidial vaccine. Vaccine. 18: 1178-85.
6. Jeffers, T.K. (1986). Attenuation of coccidia. Review. In: *Research in avian coccidiosis.* Ed.by: L.R: McDougald, L.P. Joyner and P.L. Long. University of Georgia. Athens, Georgia, pp. 482-501.
7. Awadalla , S. F. (1993) . Effect of low — level infection of *Eimreria tenella* for a short duration on development of species Immunity in chicken. Veterinary medicine J. Giza. 3 : 9-12.

8. Rose, M.E (19730. Immunity. In: the coccidian Ed. by: Hammaond and P.L Long. University Park Press, Baltimore.Bulter Worths, London pp.295-341.
9. Bhogal, B.S.; Miller, G.A.; Anderson, A.C.; Jessee, E.J.; Strausberg, S; McCandliss, R.; Nagle, J and Strausberg, R.L. (1992). Potential of a recombinant antigen as aprophylactic vaccine for day- old broiler chickens against .*Eimena acervulina* and *Eimeria tenella.* Vet. Immuno.Immunopath.31: 323-35.
10. Long, P.L.; Johnson, J.; Mckenzie, M.E; Perry, E.; Crane, M.S.J. and Murray, P.K. (1986). Immunization of young broiler chickens with low level infections of *Eimeria tenella, Eimeria acervulina* or *Eimeria maxima.* Avian Path.15: 271-278.
11. Jeffers, T.K. (1975). Attenuation of *Eimeria tenella* 'through selection for precociousness. J. of Parasitol.61: 1083-1090.
12. Kulkarni, J.R.; Roa, J.R. ; Omanwar, S. and Singh, R.K. (1999). Isolation, purification and protein profile of merozoite and oocyst. J. of Vet. Parasitol. 13: 119-123.
13. Albaness, A. and Smetama, H.(1937).(Cited by Waxler 1941).
14. Waxler, S.H. (1941). Immunization against Caecal coccidiosis in chickens by the use of X-Ray attenuated oocyst. J. Ame. Vet. Med. Ass. 99: 481 – 485.
15. Hein, H.(1963). (Cited by Marjankova and stejskal ,1972).
16. Hartmanova, B. and Ziegler, K. (1972). Inhibition of the development cycle of *Eimeria tenella.* In immunized chickens. Acta Veterinaria. 41: 185-9.
17. Ziegler, K. (1973). Immunization of chickens with Xirradiated oocystes of *E. tenella* (Raillet and Lucet, 1985). Acta Veterineria. 42: 141-152.
18. Sokolic, A.; Movesesijan, M.; Tanielian, Z and Abu All, N. (1976). Irradiated *Eimeria brunetti, .Eimeria necatrix* and *Eimera tenella.* In the Simultaneous immunization of chickens. Brit. Vet. J. 132: 416 – 422.
19. Abu Ali, N. ; Binnerts, W. T. and Klimes, B. (1972). Immunization by irradiated *Eimeria acervulina.* J. of protozool. 19: 177-180.
20. الاعظمي، نور ليث عبد اللطيف (1999). التلقيح بطفيلي الاميريا نكاتركس المشع بجرع مختلفة من اشعة كاما. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري. جامعة بغداد.
21. Long, P.L. and Millard, B.J. (1977). *Eimeria:* immunization of young chickens kept in litter pens. Avian path. 6:77-92.

22. Jenkins, M.C.; Augustine, P.C.; Danforth, H.D. and Barta, J .. R. (199 la). X-irradiation of *Eimeria tenella* oocyst provides direct evidence that sporozoite invasion and early schizont development induce aprotective immune response(s) infectious. Immunity. 59: 4042-4048.

23. Jenkins, M.C.; Seferian, P.G.; Augustine, P.C. and Danfarth, H.D. (1993). Protective immunity against coccidiosis elicted by radiation-attenuated *Eimeria maxima* sporozoites that are incapable of asexual development. Avian Dis. 37: 74-82.

24. المحمد , نعيم ثاني , الراوي , خاشع محمود , يونس ,مؤيد احمد و المراني , وليد خضير (1986) مباديء الاحصاء. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل.

25. العبيدي , سداد محمد (2000) . مسح ميداني لامراض الدجاج في بغداد للفترة من شـــهر تشرين الاول عام 1998 الى شهر حزيران عام 1999 . رسالة ماجستير . كلية الطـــب البيطري – جامعة بغداد.

26. Ibrahim, A.I.; Arafa, E.A. and Sahlab, A.A. (1997). Study on Pathogenecity and immunogenecity of irradiated sporulated intestinal *Eimeria* oocyst in chickens. Assiut .Vet. Med. J. 37: 133-140.

27. Barwick, W. M. ; Stevenson , C. T. ; Johnson, R. V.;Casorso, D. R. and Hymas , T. A. (1970). Coccidiosis: Evaluation of techniques for bettry testing of field-collected *Eimeria* oocyst. Exp. Parasitol. 28: 37-41.

28. A1-Attar , M. A. (1981). Factors Affecting the Pathogenesis *Eimeria necatrix* infections in chicken. Ph. D. Thesis. University of Guelph. Canada.

29. Davis, L.R. (1973). Techniques. In: The coccidia. Ed.by: D.H. Hammond and P.L. Long. Baltimore. Butter worth, London. University Parkpress. pp. 411-458.

30. AECL (1984). Certificate of measurement , Gamma cell- 220 sorce, No. gs346- quality control. Ottawa. Canada.

31. Edward, C.M.; C.C. William and A.C. Cuckler (1968). Development of resistance to quinoline coccidiostats under field and Laboratory condition. J. of Parasitol. 54:1190-1193.

32. Long, P.L. and Rose, M.B (1982). Prospects for the control of coccidiosis by immunization. World Poult.Sci. 88: 85-96.

33. Natt, N.P. and Herrick, C.A. (1955). The effect of caecal coccidiosis on the blood cells of the domestic Fowl. 1. Comparison of the change in the erythrocyte count resulting from haemorrhage in infected and mechanically bled birds. The use of the hematocrit value as an index of the severity of the hemorrhage resulting from the infection. Poult. Sci. 43: 1100 – 1106.
34. Johnson, J. and Reid, W.M. (1970). Anticoccidial drugs lesion scoring techniques in battery and floor-Pen experiments with chickens. Exp. Parasitol. 28: 30-36.
35. Permin, A. and Hansen, J.W. (1998). Epidimiology. Diagnosis and Control of Poultry Parasites. FAO. Rome Pp.160.
36. A.O.A.C. (1970). Association of Official Analatical Chemist. Washington D.C. Official methods of analysis II edit.
37. Long, P.L. ; Johnson, L. and Wyatt, R.D. (1980). *Eimeria tenella:* Clinical effect in partially Immune and susceptible chicken. Poult.Sci. 59: 2221-2224.
38. Lillehoj, H.S. (1988). Influence of inoculation dose. inoculation schedule, chicken age and host genetic on disease susptibility and development of resistance to *Eimeria tenella* infection. Avian dis. 32: 437- 444.
39. شوقي , ربى احمد (2001). الكفاءة التمنيعية لطفيلي الاكريـــات E.tenella المضعفـــة باشعة كاما في دجاج اللحم. رسالة ماجستير. كلية الطب البيطري – جامعة بغداد .
40. Marjankova, K. and Stejskal, J. (1972). Influence of irradiation of oocysts on vitality of sporozoites of *Eimena tenella.* Acta. Vet. Brno. 41: 19 1-195.
41. العطار , ماجد احمد , شـــبر , اســـماعيل كـــاظم وشـــاهين , منـــير جـــورج (1999). حماية الدجاج ضد مرض الاسهال الدموي باستعمال اكياس بيض طفيلي الايميريا تنيـــلا المشععة باشعة كاما. مجلة الزراعة العراقية (عدد خاص) .7:1-8
42. Sluis, W.V. (1998). The Value of Asts. World Poultry. 14: 31- 32.
43. Shirley, M.W. (1988). Control of coccidiosis with vaccines. Pp 129-157 In: Proc. of the second Asian/ pacific poultry health conference.
44. Long, P.L. (1972) *Eimria tenella:* Reproduction, Pathogenecity and immunogenecity of a strain maintained in chick embryos by serial passage. J. Comp . Path. 82:429-437.
45. Nakai, Y.; Uchida, T and kanazawa, K (1992). Immunization of young chickens by trickle infection with *Eimena tenella.* Avian Dis.-36: 1034-1036.

46. Waldenstedt, L; Eiwinger.K. ;Lundent,A.; Thebo,P. and Uggla, A (2001). Sporulation of *Eimena maxima* oocyst in litter with different moisture contenlts. Poult.Sci. 80:1412-1415.
47. Wilhiams,R.B.(1994).Safety of the attenuated anticoccidial vaccine "Paracox" in broiler chickens isolated from extraneous coccidial infection. Vet. Res. Commun. 18:189-198.
48. Long, P.L. and Rowell ,J.C.(1975).Sampling broiler house litter for coccidial oocysts.Brit. Poult. Sci. 25:583-592.
49. Yvore, P. (1978). Effect of coccidiosis on the nutrition of the host. In: *Avian coccidiosis.* Ed.by: P.L.Long ; K.N. Boorman and B.M. Freman. Edinburgh. Brit. Poult. Sci. Ltd.pp. 269-280.
50. القشطيني , رافت مظهر (1994) تضيف الايميريا تنيلا بالاشعاع لاغراض التحصين في الدجاج. رسالة ماجستير . كلية الطب البيطري –جامعة بغداد.
51. Coggle, J. E. (1983). Biological effects on radiation; London Tylor and Francis. Ltd..
52. Williams, R.B. (1995). Epidimiological studies of coccidiosis in the domesticated Fowl *(Gallus gallus):* The fate of ingested oocyst of *Eimeria tenella* during the prepatent period in suceptible chicks. Appl. Parasitol. 36: 83-9.
53. Champan, H. D. and cherry, E. (1997). Eye spray vaccination : nfectivity and development of immunity to *Eimera acervulina* and *Eimeria temella.* J.of Appl. Poult. Res. 6:274-278.
54. Champan, H. D. (2000). Practical use of vaccines for the control of coccidiosis in the chicken. Worlds poult. Sci. J. 56:7-20.
55. Newman, L.J. (1999). Coccidiosis control with vaccive: been there, done that. Or have we? In: proceedings of the Arkansas poult. symp. pp. 52-55.
56. Witlock, D.R. (1983). Physiologic basis of blood loss during *Eimeria tenella* infection. Avian Dis. 27: 1043-1050.
57. Norton, C.C. and Joyner L.P. (1986). Avian coccidiosis. The administration of encapsulated oocysts. Parasitol. 92: 499-510.
58. Long, P.L. (1966). The growth of some species of *Eimeria* in avian embryos. Parasitol. 56 : 575-681.
59. Ruff, M.D. (1998). Why can't control coccidiosis?. World Poult. 14: 30-31.
60. Ruff, M.D. and Bacon, L.D. (1989). *Eimena acervulina* and Eimeria *tenella* in 15B- congenic White Leghorns. Poult. sci. 68: 380-385.

61. Conway, D.P.; Mckenzie, M.E. and Dayton, A. D. (1990). Relationship of coccidial lesion scores and weight gain in infections of *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima* and *E. tenella* in broiers .Avian Path. 19:489-496.

62. McDonald, T.T. (1990). The role of activated T-lymphocytes in gastrointestinal disease. Clin. and Exp. Allergy. 20: 247-252.

63. McDougald, L.R. and Reid, W.M. (1997). Coccidiosis. In: Disease of poultry Ed. By: B.W. Calnek; H.J. Barnes; C.W. Beard; L.R. McDougald. And Y.M. saif 10th Ed. Mosby- wolfe. PP. 865.

64. Sterwin. (1992). Labratories Product Information. Stiff, M.I. and Bafundo, K.W. (1993). Development of mmunity in broilers continuously exposed to *Eimana* spp Avian Dis. 37: 295-301.

65. معلة، عفاف عبد الرزاق عباس (2001). تأثير حجوم اجزاء العلف على خمـــج فـــروج اللحم بالاكريات. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري. جامعة بغداد.

66. Fitz - Coy, S.H. (1992). Antigenic variation among strains of *Eimeria maxima* and *Eimeria tenella* of the chicken. Avian. Dis. 36: 40-3.