

**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
ДЕПАРТМАН ЗА ВЕТЕРИНАРСКУ МЕДИЦИНУ**

**ПРАЋЕЊЕ ИМУНОЛОШКИХ И ПАТОЛОШКИХ ЕФЕКТА
АТЕНУИРАНИХ ВАКЦИНА У ИМУНОПРОФИЛАКСИ БРОЈЛЕРСКИХ
ПИЛИЋА ПРОТИВ ИНФЕКТИВНЕ БОЛЕСТИ БУРЗЕ**

-Докторска дисертација-

мр сци. вет. ЉИЉАНА СПАЛЕВИЋ

НОВИ САД 2015

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Кључна документацијска информација

Редни број:

РБР

Идентификациони број:

ИБР

Тип документације:

Монографска документација

ТД

Тип записа:

Текстуални штампани материјал

ТЗ

Врста рада:

Докторска дисертација

ВР

Аутор:

Љиљана Спалевић

АУ

Ментор:

др Бранислав Лако, редовни професор у пензији

МН

др Слободан Лилић, виши научни сарадник

Наслов рада:

Праћење имунолошких и патолошких
ефеката атенуираних вакцина у
имунопрофилактици бројлерских пилића против
инфективне болести бурзе

НР

Језик публикације:

Српски

ЈП

Језик извода:

Српски / енглески

ЈИ

Земља публикавања: ЗП	Република Србија
Уже географско подручје: УГП	АП Војводина
Година:	2015
Издавач: ИЗ	Ауторски репринт
Место и адреса:	21000 Нови Сад, Департман за ветерину Пољопривредни факултет, Трг Доситеја Обрадовића 8
Физички опис рада: ФО	8 поглавља / 81 страна / 24 табеле / 35 графикана/ 14 слика
Научна област: НО	Ветеринарство
Научна дисциплина: НД	Имунологија и заразне болести
Предметна одрадница, кључне речи: ПО	Гамборо болест, атенуиране вакцине, Фабрицијусова бурза, хистолошке промене, бурзални индекс
УДК:	57:083.3:616.9:635.5(043.3)
Чува се: ЧУ	Библиотека Пољопривредног факултета, Нови Сад
Важна напомена: ВН	Нема

Чланови комисије:

dr Бранислав Лако, редовни професор у пензији
Ветеринарска микробиологија и заразне
болести, Пољопривредни факултет,
Нови Сад, ментор

dr Слободан Лилић, виши научни сарадник,
Ветеринарство-Хигијена и технологија
намирница анималног порекла, Институт
за хигијену и технологију меса, Београд,
ментор

dr Војин Иветић, виши научни сарадник
Патолошка морфологија домаћих животиња,
Научни институт за ветеринарство Србија,
Београд, члан

dr Душан Орлић, редовни професор у пензији
Патологија живине и дивљачи,
Научни институт за ветеринарство, Нови Сад,
члан

dr Јадранка Жутић, научни сарадник,
Микробиологија, Научни институт за
ветеринарство Србије, Београд,
члан

UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF AGRICULTURE

Key word documentation

Accession number:

ANO

Identification number:

INO

Document type:

DT

Monograph documentation

Type of record:

TR

Textual printed material

Contents code:

CC

PhD thesis

Author:

AU

Ljiljana Spalević

Mentor:

Branislav Lako, PhD , retired full professor
Slobodan Lilić, PhD, Senior research
Associate

Title:

TI

Investigation of immunological and
pathological effects of attenuated
vaccines in immunoprophylaxis broiler
chickens against infectious bursal disease

Language of text:

LT

Serbian

Language of abstract: LA	Serbian / English
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2015
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	21000 Novi Sad, Department for veterinary medicine, Faculty of Agriculture, square of Dositej Obradović 8
Physical description: PD	8 chapters / 81 pages / 24 tables / 14 figures / 35 charts
Scientific field: SF	Veterinary
Scientific discipline: SD	Immunology and Infectious Diseases
Subject, Key words: SKW	Gumboro disease, attenuated vaccines, Bursa of fabricius,histological changes, bursal index
UDC:	57:083.3:616.9:635.5(043.3)

Holding data: Library of the Faculty of Agriculture of the
HD University of Novi Sad

Note: None
N

Abstract:

AB Infectious bursal disease (Gumboro disease) is a contagious viral disease of young chickens. The causative agent is an RNA virus that belongs to the family Birnaviridae. It exhibits tropism toward bursa of Fabricius causing damage to cells and atrophy. The disease is controlled by vaccination of susceptible broiler breeders and chickens. The use of attenuated vaccines may lead to the reduction of certain production parameters. The aim of this study was to prove which of the applied attenuated vaccines, intermediate Gumbokal, Gumbokal D78 and intermediate-plus Gumbokal 228E, induces the best immunological response and leads to fewest damages to bursa of Fabricius tissue and spleen. We tracked whether it influences on immunosuppressive vaccine against Newcastle disease and if it leads to reduce of body mass of broiler chickens. Basic experimental groups were vaccinated on the fourteenth day of age against Gumboro diseases, and sub-groups were formed of the basic experimental groups which have been vaccinated against Newcastle disease in different time periods: O1-1, O2-2, O3-1 after seven days, O1-2, O2-2, O3-2 after fourteen days, O1-3, O2-3, O3-3 after twenty-one days of vaccination against Gumboro disease. From the first to the fourth second day of the experiment, blood was extracted from the chicks every seven days, their body weight was measured and bursa and spleen were sampled.

Blood serum were assayed for the amount of the antibody titer by enzyme-linked immunosorbent assay test (ELISA) for Gumboro disease, and with Hemagglutination-inhibition test (HI) for Newcastle disease. The biggest titer for Gumboro disease were showed by experimental group O1, then O2 and group O3 the lowest. In the experimental subgroups O3-1, O3-2 and O3-3 immunosuppressive effect was exhibited on the immune response to Newcastle disease. Relative weight and bursal index were determined for bursa of Fabricius to determine whether there was atrophy after administration of the vaccine. The lowest bursal index was established in the experimental group O3, followed by O2 and O1. Such sequence was established also for histopathological changes in the bursa. The obtained results indicate that the use of the intermediate-plus vaccine induces the best immune response, but also the lowest relative value of the mass and bursal index, as well as a lower body weight compared to the intermediate vaccine. Applied vaccines did not affect the relative weight of the spleen and have not led to the appearance of histopathological changes in it.

Accepted by the Scientific Board on: 20.09.2012.

ASB

Defended:

DE

Thesis Defend Board:
DB

Branislav Lako, PhD, retired full professor
Microbiology and Infectious Diseases
Faculty of Agriculture, Novi Sad
Mentor

Slobodan Lilić, PhD, Senior Research Associate
Hygiene and technology of foodstuffs of animal
origin, Institute of Meat Hygiene and Technology
Belgrade
Mentor

Vojin Ivetić, PhD, Senior Research Associate
Pathological morphology of farm animals,
Scientific Veterinary Institute of Serbia,
Belgrade, Member

Dušan Orlić, PhD, retired full professor
Livestock and wild life pathology
Scientific Institute of Veterinary, Novi Sad
Member

Jadranka Žutić, PhD, Research Associate,
Microbiology
Scientific Veterinary Institute of Serbia, Belgrade
Member

САДРЖАЈ

1. Увод.....	1
2. Преглед литературе.....	2
2.1. Историјат болести.....	2
2.2. Епизоотиологија.....	2
2.3. Етиологија болести.....	3
2.3.1. Класификација узрочника.....	3
2.3.2. Структура вируса.....	3
2.3.3. Серотипови вируса.....	4
2.3.4. Антигени вируса.....	4
2.3.5. Физичко-хемијске особине вируса.....	4
2.3.6. Патогенеза и умножавање вируса.....	4
2.3.7. Клинички знаци болести.....	6
2.3.8. Патоморфолошке промене.....	7
2.3.9. Дијагноза болести.....	7
2.3.9.1. Серолошки тестови.....	7
2.3.9.2. Идентификација узрочника.....	8
2.4. Имунолошки систем живине.....	8
2.4.1. Имунопрофилакса.....	10
2.4.2. Имуносупресија.....	11
2.5. Фабрицијусова бурза.....	12
3. Циљ и задаци рада.....	17
4. Материјал и метод рада.....	18
4.1. Материјал.....	18
4.1.1. Експерименталне јединке.....	18
4.1.2. Експериментални дизајн.....	18
4.2. Методе испитивања.....	20
4.2.1. Имунолошка испитивања.....	20
4.2.1.1. Имуноензимски тест.....	20
4.2.1.2. Хемаглутинационо инхибициони тест...	20
4.2.2. Мерење телесне масе пилића.....	21
4.2.3. Одређивање релативне масе Фабрицијусове бурзе и слезене и израчунавање бурзалног индекса.....	21

4.2.4. Хистолошка испитивања.....	21
4.2.5. Статистичка анализа података.....	22
5. Резултати.....	23
5.1. Телесна маса бројлера.....	23
5.2. Релативна маса Фабрицијусове бурзе.....	35
5.3. Бурзални индекс.....	36
5.4. Релативна маса слезене.....	39
5.5. Висина титра антитела на Гамборо болест.....	43
5.6. Титар антитела на Њукастл болест.....	50
5.7. Резултати хистолошких испитивања.....	53
5.7.1. Хистолошко испитивање Фабрицијусове бурзе.....	53
5.7.2. Хистолошко испитивање слезене.....	56
6. Дискусија.....	57
6.1. Телесна маса.....	57
6.2. Релативна маса фабрицијусове бурзе.....	58
6.3. Бурзални индекс.....	59
6.4. Титар антитела на Гамборо болест.....	60
6.5. Имуносупресија.....	61
6.6. Хистолошка испитивања.....	62
7. Закључак.....	77
8. Списак литературе.....	88

1. УВОД

Добар здравствени статус живине је кључ за успешну производњу. Болести, нарочито имуносупресивне као што је инфективна болест бурзе, имају негативан утицај како на здравље живине, тако и на производне резултате. Инфективна болест бурзе (IBD) или Гамборо болест (GB) је акутна, контагиозна вирусна инфекција живине. Болест је распрострањена у земљама са индустријским живинарством где представља сталну претњу живинарској производњи због утицаја на економски учинак. Болест је праћена смањеним параметрима производње.

Узрочник болести је РНА вирус који припада фамилији *Birnaviridae* и има два серотипа. Серотип 1 погађа подмладак живине, а серотип 2 је изолован из ћурака. Присутни су различити патотипови ИБДВ који се класификују према степену вируленције као: благи, интермедијарни и интермедијарни-плус вакцинални сојеви, класични вирулентни и веома вирулентни (vv) сојеви. Нарочито су опасни веома вирулентни сојеви јер узрокују велики морбидитет и морталитет који се креће од 80-100%. Узрочник перзистира дуго у спољашњој средини и врло се тешко искорењује. Преноси се директним контактом инфициране живине, зараженим фецесом и ђубретом, као и преко заражене опреме, хране и обуће радника. Пилићи су једина птичија врста која показује клиничке знаке болести: наоштрено перје, воденасти пролив, дрхтање и исцрпљеност. Тек излежени пилићи ретко показују знаке болести. Турке, патке и нојеви су суспектни, али не показују клиничке знаке болести (Wyeth, 2000). Код живине старости до 6 недеља доводи до морбидитета који се креће и до 100% праћен морталитетом од 20-30%. Пилићи млађи од три недеље не показују клиничке знаке болести, субклинички се јавља имуносупресија и повећана пријемчивост према другим болестима (Lasher i Davis.,1997; Saif, 1998). Код живине старије од три недеље јављају се клинички знаци болести: слабост, дехидратација, пролив и повећан морталитет у трајању 5-7 дана, након чега следи опоравак (Lukert i Saif, 2003). Вирус је лимфотропан, посебан ефекат испољава према Б ћелијама у Фабрицијусовој бурзи где доводи до деплеције лимфоцита (сви сојеви) и инфламаторних процеса (класични и врло вирулентни сојеви), атрофије бурзе, да би четвртог дана од инфекције наступила регенерација. Имунизација је примарни метод за превенцију болести. Родитељска јата се вакцинишу инактивисаним вакцинама и преносе антитела на потомство која ће их штитити у првим данима живота. Пилићи се касније вакцинишу живим вакцинама (благе, интермедијарне или вруће) што им пружа даљу заштиту током живота. Примењене вакцине могу имати разне негативне последице на Фабрицијусову бурзу (атрофија, имуносупресија) које се углавном заврше регенерацијом бурзе, али она никада не врати своју првобитну величину.

Потреба да се живина заштити од болести довела је до развитка нових видова имунизације, као што је вакцинација *in ovo* (Gagić i sar.,1999; Whitfill i sar., 2002).

2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

2.1. ИСТОРИЈАТ БОЛЕСТИ

Инфективна болест бурзе (Infectious bursal disease, IBD) је акутно, веома контагиозно вирусно обољење претежно младих пилића (Lukert и Saif, 2003). Домаће кокоши (*Gallus gallus*) су једина врста код које долази до клиничке појаве болести. Серолошка испитивања дивљих птица (Wilcohi сар.,1983; Gardner и сар.,1997; Ogawa и сар.,1998б) указују да оне могу бити резервоар вируса. Није доказано да вирус IBD може инфицирати људе.

Болест се први пут појавила 1957. године у месту Гумборо (САД), а према географској локацији места синдром добија име "Гамборо болест". Болест се врло брзо ширила у јатима бројлера у САД да би се исте године појавила у Великој Британији. У Италији, Немачкој и Швајцарској се појављује 1965.године, у Француској и Румунији 1968.године, у Шпанији 1969.године, у Пољској 1970. године. У СФРЈ, о болести извештавају Карловић и Пауковић 1971. године. У Србији је болест установљена 1974.године у Војводини, налазом антитета, а 1975.године, вирус је изолован из Фабрицијусове бурзе оболелих бројлерских пилића (Velhner и сар.,1976).

Cosgrove (1962) је болест описао као "авијарну нефрозу". Оболели пилићи су били стари између две и три недеље, показивали су знаке анорексије, воденог пролива и депресије. Патоанатомски је било уочљиво крварење на мишићима батака и карбатака, инфаркти на јетри, доста слузи у цревима, оштећења бубрега и повећање Фабрицијусове бурзе. Након изоловања инфективног агенса на пилећим ембрионима (Winterfield и Hitchner,1960), Hitchner је предложио да се болест назове "Инфективна болест бурзе" због патолошких промена у бурзи. Alan и сар. (1972) први констатују да вирус показује и имуносупресивни ефекат.

Године 1987., високо патогени сој (849 VB) тип 1 се појавио у Холандији и Белгији где је морталитет код оболелих носиља старости 3-14 недеља износио 70% (van den Berg и сар., 1991). Врло вирулентни сојеви (vvIBDV) значајно мењају слику болести, од, углавном, субклиничке форме са мање од 1% морталитета, сада се јављају озбиљне инфекције које узрокују морталитет код бројлера до 25%, а код носиља и до 60% (van den Berg и сар., 1991). Врло вирулентни сој се јавља у Русији и Кини 1993. године, код десет дана старих Легхорн кока и доводи до 60% морталитета (Gaudru, 1993).

На 63. Генералној седници Канцеларије за међународне епизоотије (ОИЕ,1995) је закључено да се Гамборо болест појавила у више од 95% земаља чланица (Etteradossi, 1995).

2.2.ЕПИЗООТИОЛОГИЈА

За болест су пријемчиви пилићи и кокошке, док су ћурке, патке и нојеви суспектни, али не показују клиничке знаке болести (McIntu и сар.,1979; Lukert и Saif, 1997). Антитела према IBDV су утврђена код врана, соколова, дивљих

фазана, галебова и Антарктичких пингвина (Etteradossi и Saif, 2008). Вирус се преноси директним контактом са зараженом живином, контаминираним ђубретом или фецесом, зараженом опремом (Office International des Epizooties, 2004).

Најпријемчивији су пилићи старости 3-6 недеља. Субклинички оболевају пилићи млађи од три недеље (Lukert и Saif, 1997) могу да оболе и тек излежени пилићи (Fadleu и Nazerian, 1983), али и живина старости 20 недеља (Okoue и Uzoukwu, 1981). Сва родитељска јата су подложна инфекцији, али се већа стопа смртности јавља код лаке линије (Lukert и Saif, 1997) што је последица хаплоидног Б - алела (Nielsen и сар., 1998). Није забележено преношење IBDV на јаја. Заражена живина излучује вирус фецесом најмање 14 дана (Bahendale, 2002).

2.3. ЕТИОЛОГИЈА БОЛЕСТИ

2.3.1. Класификација узрочника

Првобитно је узрочник класификован као *Picornavirus* (Cho и Egar, 1969). Lukert и Davis (1974) га сврставају у фамилију *Retroviridae*. Према садашњој класификацији припада фамилији *Birnaviridae* (Dobos, 1979), род *Avibirnavirus* (Leong и сар., 2000). Фамилију *Birnaviridae* чине три рода:

- *Aquabirnavirus* – изазива заразну некрозу гуштераче риба, мекушаца и зглавкара,
- *Avibirnavirus* – изазива инфективну болест бурзе,
- *Entombirnavirus* – Drosophila H вирус (DHV) који инфицира инсекте.

2.3.2. Структура вируса

Капсид вируса је икосаедарног облика, дијаметра око 60 nm, без пеплоса. Састоји се од двоструког ланца dsRNA (Dobos и сар., 1979) са два сегмента: А и Б. На сегменту А се налазе два кодирајућа региона, већи и мањи (open reading frames – ORF) од 3200 базних парова (Maw и сар., 2006). Већи ORF кодира синтезу структурних протеина VP2, VP3 и VP4, а мањи ORF синтезу неструктурног VP5 протеина. Протеин VP5 нема улогу у репликацији вируса, али га ослобађа из заражене ћелије (Lombardo и сар., 2000). Место одговорно за индукцију неутрализујућих антитела припада сегменту VP2 (Becht и сар., 1988). Структурни протеини VP2 и VP3 формирају капсид вируса, VP2 су спољашњи а VP3 унутрашњи протеини капсида, док је VP4 вирусна протеаза (Caston и сар., 2001).

Дужина сегмента Б је 2800 базних парова (Muller и Nitschke, 1987). Овај сегмент садржи само један ген, VP1, који кодира вирусну полимеразу од 97 kD (Etteradossi, 2001). Генетски постоји јасна разлика између врло вирулентног соја (vvIBDV) и других сојева у вези гена VP1 (Zierenberg и Muller, 2001). Појава нових епитопа и сојева су последица мутација једне аминокиселине у хиперваријабилном локусу VP2 (Giambone, 2001).

2.3.3. Серотипови вируса

Вирус неутрализационим тестом је утврђено да постоје два различита серотипа IBD вируса (McFerran и сар., 1980). Серотип 1 садржи патогени сој, док серотип 2 који је углавном изолован код ћурака, код пилића не изазива болест нити ствара заштиту против серотипа 1. Сојеви серотипа 1 могу бити класични, варијантни и врло вирулентни (Jackwood и Saif, 1987).

Појава варијантних вируса је прво саопштена у САД 1987. Године (Jackwood и Saif, 1987) и Аустралији (Sarats и Ignjatovic, 2000), а разликују се од класичних вируса у погледу патогености и имуногености. Они узрокују рапидну атрофију бурзе уз минималну или никакву упалу (Hassan и Saif, 1996). Врло вирулентни сојеви су прво идентификовани у Белгији 1980. године (van den Berg и сар., 1991).

2.3.4. Антигени вируса

Епитопи који су одговорни за индукцију вирус-неутрализујућих антитела зависни су од конформације VP2 протеина (Becht и сар., 1988), док се групно специфични епитопи на којима се не синтетишу антитела налазе на VP3 протеинима капсида вируса (Oppling и сар., 1991). Испитивањем нуклеотидне секвенце која кодира варијабилни регион VP2 утврђено је да се vvIBDV изоловани у Европи, Азији и Африци, могу сврстати у исту групу (Chen и сар., 1998; Pitcovski и сар., 1998) јер су антигенски и генетски слични једни другима (Etteradossi и сар., 1999; Islam и сар., 2001a).

2.3.5. Физичко-хемијске особине вируса

Иако је без капсида, вирус је врло отпоран на физичке и хемијске агенсе тако да остаје инфективан до 60 дана у простирци у објекту (Vindevogel и сар., 1976). Добро подноси ниску киселост (pH 2) али је инхибиран на pH 12 (Benton и сар., 1967b). Landgraaf (1972) извешава да IBDV преживљава 70°C за 30 минута, а 0,5% хлорамини убијају вирус након 10 минута. Вирус се може успешно инактивисати 10% водоник пероксидом (Neighbor и сар., 1994) као и мешавином фенола, хлороформа и исоамил аклохола у односу 25:24:1 (Jackwood и сар., 1996).

Вирус може да опстане и неколико месеци у окружењу, доказано је присуство у инсектима и црвима, па тако фарма остаје заражена дуго времена након избијања болести (McFerran и McNulty, 1993).

2.3.6. Патогенеза и умножавање вируса

Након оралне инфекције умножавање вируса почиње у лимфоцитима и макрофагима цекума, дуоденума и јејунума (Müller и сар., 1979). У току 5 сати од инфекције вирусни антиген се може наћи у јетри где бива нападнут од стране Купферових ћелија. Крвотоком одлази у бурзу Фабрицијус и друге органе. Већина бурзалних фоликула показује некрозу незрелих Б-ћелија у кори и у сржи 13 сати од инфекције (Tanimura и Sharma, 1997). Шеснаест сати од инфекције јавља се

секундарна репликација вируса у Хардеровој жлезди, слезени и тимусу (Sharma и сар., 1989). IBDV узрокује инфламацију бурзе која је праћена атрофијом седам дана после инфекције (Winterfield и сар., 1972). Умножавање вируса доводи до деструкције лимфоидних ћелија у кори и сржи фоликула бурзе (Tanimura и Sharma, 1997), али и у цекалним тонзилама и слезени (Rodenberger и сар., 1994).

У току акутне фазе болести уочљиво је драматично смањење циркулишућих имуноглобулина IgM чиме је супримиран примарни имунолошки одговор (Sharma и сар., 2000). Код пилића који преживе акутну фазу болести постепено јењава вирусна репликација, бурзални фоликули се насељавају са плазма ћелијама, а имунолошки одговор се постепено враћа у нормалне оквире.

Пропадање Б-ћелија у бурзи Фабрицијус праћено је активирањем CD4+ и CD8+ пореклом од Т-лимфоцита (Tanimura и Sharma, 1997). Иако су Т ћелије резистентне на инфекцију IBDV, седмог дана инфекције евидентно је велико повећање CD8+ ћелија. Т-ћелије могу да ограниче умножавање вируса у бурзи у раној фази болести ослобађањем цитокина, али последично се разара ткиво бурзе и касни опоравак њених фоликула (Rautenschlein и сар., 2002).

Инфицирани макрофаги имају улогу у ширењу вируса из црева у бурзу Фабрицијус и друге периферне органе (Kaufert и Weiss, 1976). Већ активирани макрофаги секретују имунорегулаторне цитокине који привлаче Т-ћелије и здраве макрофаге на место инфекције. У току акутне фазе повећана количина ових инфламаторних медијатора може повећати локалну упалу и разарање ткива (Khatri, 2005).

Вирус IBD изазива апоптозу у периферним бурзалним лимфоцитима, пилећим ембрионима и фибробластима ембриона (Vasconcelos, 1994). Претпоставља се да два вирална протеина, VP2 и VP5, изазивају апоптозу (Yao и Vakharia, 2001). Инфицирани пилићи фецесом излучују вирус 16 дана од почетка инфекције (Winterfield и сар., 1972).

Инфекција класичним сојевима узрокује упалу и хипертрофију бурзе Фабрицијус три дана након инфекције, четвртог дана је двоструко повећана због едема и хиперемije, петог дана се враћа на нормалну масу (Etteradossi и Saiff, 2008).

Инфекција варијантним сојевима изазива наглу атрофију и мукозни едем без запаљења (Sharma и сар., 1989). Другог дана се у бурзи појављује жућкасти желатинозни трансудат, хеморагије и некрозе. Повремено се појављују петехијална крварења на прелазу жлезданог у мишићни део желуца (Etteradossi и Saif, 2008).

Инфекција веома вирулентним сојевима (vvIBDV) изазива сличне лезије у бурзи као и други сојеви, али и велика оштећења на цекалним тонзилама, тимусу, слезени и коштаном сржи (Etteradossi и Saif, 2008). Овај сој вируса узрокује тешке, али неспецифичне клиничке симптоме укључујући анорексију, депресију, пролив и високу стопу смртности 3-6 дана након инфекције (Kabell и сар., 2005).

Висока концентрација вирусних антигена је доказана у бурзи Фабрицијус, а трагови у тимусу и слезени. Код *in vitro* инфекције, испитивања показују да се умножавање вируса одвија у зрелим Б ћелијама, али не и у незрелим лимфобластима (Beug и сар.,1981; Muller,1986). Серотип 2 соја вируса се не размножава у лимфоидним ћелијама, али расте у фибробластима пилећег ембриона ако се ћелијска култура адаптира серотипу 1 где узрокује пропустљивост мембране и спречава интрацелуларну хомеостазу јона што доводи до цитоллизе и смрти инфициране ћелије (Repp и сар., 1998). Jungmann и сар. (2001) извештавају да је апоптоза индукована умножавањем вируса у ћелијама пилећег ембриона и ћелијама бурзе Фабрицијус. Главно место умножавања вируса одиграва се у бурзи, а максимум достиже између 3-5 дана након инфекције (Wang и сар., 2011) доводећи до некрозе и апоптозе лимфоидних ћелија, атрофије и хеморагије (Taulog и сар.,2008). Слезена може бити мало повећана са сивим жариштима, равномерно распоређеним на површини (Lukert и Saif, 2003).

Пилићи који преживе акутну фазу болести постепено се опорављају од патолошких ефеката. Око 5. недеље после инфекције јављају се знаци опоравка бурзалних фоликула који су били оштећени (Kim и сар., 1999). У 7. недељи, око 40% бурзалних фоликула бива попуњено лимфоцитима, а у дванаестој скоро сви лимфоцити секретују IgM антитела (Sharma и сар., 2000). Запажено је да један број живине након опоравка показује смањену телесну масу (Sainsburu,1992)

2.3.7. Клинички знаци болести

Инфективни бурзитис је заразна болест чији ток зависи од вируленције вируса, старости и провенијенце оболеле живине. Ток инфекције може бити субклинички и клинички. Уколико су пилићи млађи од три недеље, инфекција је углавном субклиничка. Код пилића старости 3-6 недеља јављају се клинички знаци болести. Болест се углавном не јавља после 16. недеље старости код кока носиља када је бурза већ у фази регресије и врло ретко код бројлерских пилића преко 6 недеља (Engstrom и сар., 2003). Вирус се шири углавном фецесом (McFerran и McNulty,1993)

Субклинички облик инфекције доводи до дуготрајне имunosупресије због уништавања незрелих Б-лимфоцита у Фабрицијусовој бурзи, тимусу и слезени. Пилићи са ослабљеним имунолошким системом не реагују добро на вакцинацију, подложни су инфекцијама непатогеним вирусима и бактеријама, а имunosупресија остаје трајно (Lukert и Saif, 1997).

Болест се појављује изненада након инкубације од 2-4 дана. Пилићи су депресивни, имају наоштрено перије, несигуран ход (Leu и сар.,1983) и пролазну дијареју (Charlton,1996). Клоакални отвор је обложен уратима. Преживели пилићи се опораве за 3-4 дана са благом имunosупресијом (Murphy и сар., 1999). Поједини аутори (Симић и Кречов, 1977а; Leu и сар., 1979) дају податке о клиничком току болести код пилића лаке линије (Легхорн) и у 15. недељи старости.

Код инфекције класичним сојевима вируса морталитет се креће до 30%, док са врло вирулентним сојевима може бити и 90% (Chettle и сар.,1989) па и 100% (van den Berg и сар., 1991). Варијантносојеви вируса могу узроковати синдром познат као инфективни провентрикулитис (Giamborne, 2001). Клинички

знаци болести се јављају код 10-20% пилића у захваћеном јату бројлера, а толико се креће и морталитет (Leu и сар., 1983).

2.3.8. Патоморфолошке промене

Пилићи који угину од акутне инфекције након 3-4 дана по инфекцији показују дехидрацију, тамно пребојену грудну мускулатуру, отечену бурзу која је око два пута већа од нормалне величине због едема и хиперемije (Lukert и Saif, 1991). У тежим случајевима, у бурзи се јавља инфламација и желатинозан ексудат жуте боје. Варијантни сојеви не доводе до њеног повећања, код таквих угинућа бурза је атрофична (Rosenberg и сар., 1987). На површини мишића у пределу груди и батака јављају се петехијална крварења (Lukert и Hitchner, 1984). Код бројлерских пилића који су оболели између 7. и 14. дана старости налазе се крварења у мукози жлезданог дела желуца (Velhner и сар., 1980). Крварења се могу наћи и на мукози црева. У бубрезима се налазе накупине урата услед чега су повећани и бледи, јетра је увећана и прожета некротичним жариштима (Cosgrove, 1962).

2.3.9. Дијагноза болести

За дијагностику болести су довољни клинички знаци, патоморфолошке промене, нарочито карактеристичне патолошке промене на Фабрицијусовој бурзи. Најсигурнија дијагноза се постиже изолацијом и идентификацијом вируса, што се не спроводи као рутински дијагностички поступак. Вирус се може изоловати инокулацијом у SPF пилеће ембрионе, а антигени се доказују агар-гел преципитационим тестом или имуноензимским тестом. За доказивање присуства специфичних антитела користи се ELISA тест. Вирус неутрализациони тест је једини серолошки тест којим се поуздано могу диференцирати антигени серотипови и субтипови (Jackwood и Saif, 1987). Реверзно транскрипциона полимераза ланчана реакција (RT-PCR) је молекуларно-биолошка техника којом се може идентификовати vvIBDV (Ziernberg и сар., 2001).

2.3.9.1. Серолошки тестови

Агар гел имунодифузиони тест (AGID) користи се за утврђивање специфичних антитела у крвном серуму или ткиву бурзе, као и вирусног антигена у бурзи.

Вирус неутрализациони тест (VN) изводи се на култури ћелија. Овај тест се користи за разликовање серотипова и такође је метод којим се разликују антигене разлике између изолата вируса (Lukert и Saif, 2004).

Имуноензимски тест (ELISA) се користи за детекцију антитела против IBDV. Испитујуће плоче прекривене су пречишћеним или полупречишћеним вирусом (Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 2008). Предност овог теста је та што се брже долази до резултата у односу на VN и AGID тест.

Серолошке методе су битне за праћење хуморалног имунитета и одређивање времена вакцинације, а недостатак им је јер се њима не може сазнати порекло антитела (вакцинални или дивљи сој вируса).

2.3.9.2. Идентификација узročника

Да би се извршила идентификација вируса потребно је извршити његово умножавање у ембрионираним јајима из јата без специфичних антитела, пилићима без специфичних антитела или у култури ћелија. Постојање вируса се потврђује вирус неутрализационим тестом или AGID тестом.

Агар гел имунодифузиони тест (AGID) може се користити за доказивање вируса у ткиву бурзе. Потребно је узорковати бурзе од бар десет инфицираних пилића које се затим хомогенизују и центрифугују. Добијени супернатант се поставља у одговарајуће базенчиће у агару наспрам позитивног серума и читава реакција (Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 2008).

Идентификација имунофлуоресцентом методом. За доказивање антигена у бурзи користи се специфичан IBDV антисерум обележен флуоресцином, а затим се посматра под УВ микроскопом.

AC-ELISA је метода за доказивање антигена серотипа 1 IBDV у хомогенатима бурзе.

Молекуларно-биолошке методе. За детекцију генома вируса IBD највише се примењује RT-PCR (reverse-transcription polymerase chain reaction) уз употребу специфичних прајмера.

2.4. ИМУНОЛОШКИ СИСТЕМ ЖИВИНЕ

Имунолошки систем се развијао као заштитни механизам организма који га штити од бактерија, вируса и гљивица. Централну улогу имају две класе лимфоцита које потичу од исте матичне ћелије: Т-лимфоцити који сазревају у тимусу и од којих зависи целуларни имунитет и Б лимфоцити који сазревају у Фабрицијусовој бурзи, од њих зависи хуморални имунитет. Суштина сазревања лимфоцита у примарним имунолошким органима састоји се од стварања рецептора за антигене и њиховог уграђивања у површинске делове мембране лимфоцита. Имуни систем птица се разликује од имуног система сисара због присуства Фабрицијусове бурзе и одсуства лимфних чворова. Упркос анатомским разликама механизмима деловања су исти.

Органи имунолошког система могу се класификовати у примарне (централне) и секундарне лимфоидне органе. *Bursa Fabricii* и тимус су примарни лимфоидни органи у којима се прекурсори лимфоцита развијају у имунокомпетентне нативне лимфоците. Оба органа инволуирају пре сексуалне зрелости (King и McLelland, 1984).

У секундарна лимфоидна ткива се убрајају: слезена, костна срж, Хардјева жлезда, организовано лимфоидно ткиво удружено са површинском мукозом

(MALT), бронхијалним лимфоидним ткивом (BALM), цревним лимфоидним ткивом (GALT), конјунктивално лимфоидно ткиво (CALM) и друге мање организоване групе лимфоидних ћелија у различитим органима (Panda и сар., 2007). Ова лимфоидна ткива смештена су на стратегијским местима где страни антигени улазе у тело преко коже или мукоза где могу бити ухваћени и обрађени. Као и сви кичмењаци, тако и живина има два система одбране од инфективних агенаса: неспецифични (урођени) и специфични (адаптивни).

Неспецифичан имунитет обухвата физичке и биохемијске баријере као и растворљиве и целуларне компоненте које су способне да неутралишу антигене. Живина има физиолошки високу телесну температуру која не дозвољава појединим инфективним агенсима да их инфицирају. Нормална микрофлора коже и црева садржи микробну популацију која спречава продирање микроорганизама. Ћелијске компоненте неспецифичног имунолошког система укључују макрофаге, базофилне и неутрофилне гранулоците и природне ћелије убице.

Специфичан имунитет обухвата хуморални имунитет, који се обавља помоћу антитела и ћелијски имунитет. Лимфоцити су ћелијске компоненте који могу бити различитих субпопулација које се морфолошки не разликују, али се разликују по месту развоја и функционалној способности. Лимфоцити живине се састоје од Б ћелија које се развијају у бурзи Фабрицијус, и Т ћелија које се развијају у тимусу. И једне и друге на својој површини испољавају рецепторе који су специфични за одређени антиген.

Б ћелије су ефектори хуморалног имунолошког одговора. Живина поседује три класе имуноглобулина: IgM, IgG (IgY) и IgA који спречавају да се антиген везује за ћелије и инфицира их, повећавају активност фагоцитних ћелија, активирају комплементни систем. Антитела IgM класе се појављују 3-4 дана након изложености антигену и нестају након 10-12 дана, врше аглутинацију великих антигена и преципитацију растворљивих антигена. Након њих се детектују имуноглобулини IgG који пик постижу за 3-3½ недеље. Ова врста имуноглобулина се преноси из периферне циркулације кока на потомство (матернални имунитет). Имуноглобулини IgA појављују се 5 дана након изложености вирусу, делују на површини слузокоже очију, желуца и респираторног тракта.

Слично као и Б ћелије, тако и Т ћелије имају хомоген сет рецептора (TCR) за одређени антиген. TCR се могу поделити у три класе: TCR1, TCR2 и TCR3 чија је експресија повезана са групом сигналних протеина који се називају CD3 комплекс.

У комерцијалном живинарству где је потребно за кратко време добити квалитетан производ, важно је да живина може правовремено да одговори на све спољашње патогене (Hocking, 2010). Развој имунолошког система ембриона и неонаталног пилета је динамичан процес који се одвија за 21 дан у току којих се одигравају следећи процеси (Panda и сар., 2007):

- Лимфоцитне стем ћелије мигрирају у примарне имунолошке органе. Стем ћелије мигрирају у тимус у неколико таласа: седмог, дванаестог и осамнаестог дана ембриогенезе, а у бурзу седмог и четрнаестог дана ембриогенезе.
- Пролиферација лимфоцита у Фабрицијусовој бурзи и тимусу,

- Диференцијација лимфоцита у бурзи и тимусу, и
- Насељавање и диференцијација лимфоцита у периферним лимфоидним органима.

2.4.1. Имунопофилактика

Матернална антитела штите потомство првих неколико недеља, али могу и да смање активни имунолошки одговор (Lasher и Shane,1994). Вакцине које се примењују за имунизацију живине могу бити живе, где су својства вируса ослабљена тј. атенуирана, и инактивисане где се вирусна честица не може реплицирати. Није пожељно да се вакцинални вирус излучује из организма већ треба да стимулише ћелијски или хуморални имунитет (Velhner и сар.,2001).

Атенуиране вакцине се производе великим бројем пасажа вируса на кокошијим ембрионима, култури ћелија или лабораторијским животињама док се не добије вирус који не може да изазове болест, али је задржао имуногена својства. Атенуирани сојеви IBDV користе се за живе вакцине које се класификују као: благе, интермедијарне и вруће вакцине (Bublout, 2007). Ове врсте вакцина су "осетљиве" на присуство матерналних антитела. Иако пружају широку и доживотну заштиту, поседују и резидуалну патогеност и ризик од повратка вируленције. Код бројлерских пилића се примењују ради стимулације активног имунитета (Chansiripornchai, 2008).

Благе вакцине се углавном користе код бројлера код којих је висина титра пасивно пренетих антитела измерених ELISA тестом мања од 100 (van der Berg, 2000), док се код родитељских парова примењују пре инокулације инактивисане вакцине. Код пилића код којих нема матерналних антитела благе вакцине се дају првог дана након излегања.

Интермедијарни вакцинални сојеви, клонирани или добијени пасажама на кокошијим јајима, користе се за имунизацију пилића код којих је висина титра антитела измерена ELISA тестом једнака или нижа од 250.

Употреба врућих вакцина може понекад угрозити имунитет живине јер узрокују стварање лезија у бурзи (OIE 2001, van Denderberger и сар.,2000) што доводи до негативних вакциналних реакција, секундарних инфекција, и смањења телесне масе (Sellaoui и сар.,2012).

Инактивисане вакцине се добијају третирањем вируса хемијским супстанцама које утичу на промену нуклеинске киселине вируса чиме се онемогућава репликација у телу домаћина. Инактивисане вакцине, иако скупе, успешно су се користиле све до појављивања високо вирулентних сојева. Уобичајена је пракса у производњи бројлера да се вакцинишу родитељске коке инактивисаном уљном вакцином пре доношења у намери да се створи висок ниво антитела која се пасивно преносе на потомство и штите га првих дана живота (Boh, 1989). Главни пут доношења матерналних IgY из жуманцета у циркулацију ембриона настаје ендоцитозом епителних ћелија жуманцетне кесе (Kowalczyk и сар., 1985). Имуноглобулини IgY почињу да се транспортују у ембрионалну циркулацију 7. дана ембриогенезе. Њихова концентрација у плазми ембриона расте полако до 14. дана, а затим се транспорт убрзава и постиже максимум током 19-21 дана (Kowalczyk и сар., 1985).

Услед сероконверзије, ниво MDA опада па је зато неопходна вакцинација живим вакцинама. Да би се одредило право време за вакцинацију неопходно је праћење нивоа MDA. Матернална антитела могу се неутрализовати уколико се ваксинишу врло млади пилићи, стога се препоручује да се прва вакцинација не спроводи пре 14. дана старости пилића (Zaheer и Saeed, 2003). Континуирана вакцинација садржи и ризик јер вакцинални сојеви могу да преживе у околини и поврате вируленцију након пасаже кроз пилиће (Yamaguchi и сар., 2000).

Гагић и сар., (1999) и Sharma и сар. (2002) користили су интермедијани сој вируса (Bursine 2, Forth Dog) као један од антигена у вишевалентној вакцини која је тестирана после *in ovo* апликације на SPF пилићима.

Други аутори (Haddad и сар., 1997; Jeurissen и сар., 1998; Ivan и сар., 2005) наводе могућност апликације живих вируса у комбинацији са антителима.

Velhner и сар. (2002) сматрају да су генетски модификоване вакцине безбедније од антенираних.

Moura и сар. (2007) извештавају о вакцинацији *in ovo* у 18 дану инкубације ембриона против калсичних (D78) и варијантних сојева.

Болест се углавном контролише вакцинацијом (van den Berg, 2000; Muller и сар., 2003), а Munoz (2003) препоручује да се прати ниво матерналних антитела па на основу тога одредити време прве вакцинације. Кнежевић и сар. (1987) у својим истраживањима налазе да матернална антитела опстају све до 6. недеље старости. Време полураспада матерналних антитела код бројлерских пилића је око 3 дана (Murphy и сар., 1999) тако да је потомство заштићено 3-4 недеље након извођења (Engström и сар., 2003). Матернална антитела и примењене биосигурносне мере у свим деловима производње спречавају уношење и ширење болести. Уколико је висок ниво циркулишућих матерналних антитела а изврши се вакцинација, биће инхибиран активан имунолошки одговор (Naqi и сар., 1983) што зависи и од примењеног вакциналног соја (Winterfield и сар., 1980). И поред имунизације живине која се спроводи, болест и даље представља проблем широм света због појаве врло вирулентних варијантних сојева (Сао и сар., 1998; Chen и сар., 1998; Pitcovski и сар., 1998; Ture и сар., 1998).

2.4.2. Имуносупресија

Када су функције имунорегулаторних органа, као што су Фабрицијусова бурза и слезена, смањене услед деловања разних патогена, настаје имуносупресија (Muneer и сар., 1988). Имуносупресија као синдром не показује клиничке знаке болести, а карактеришу је: лоша униформност, смањена телесна маса, лош имунолошки одговор, повећан морталитет, атрофија лимфоидних органа, секундарне бактеријске инфекције.

Клиничка и субклиничка инфекција са IBDV могу узроковати имуносупресију (Sharma и сар., 2000; Ahmed и Akhter, 2003; Uddin и Hossain, 2006), а деструкција Б ћелија и макрофага су вероватно главни фактори који доприносе појави имуносупресивности (Kim и сар., 1998). Неке студије указују да индукција про-инфламаторних цитокина прати IBDV инфекцију у зависности од соја (Eldaghayes и сар., 2006).

Недавне студије показују да је осетљивост интрабурзалне популације Б ћелијаза IBDV различита у зависности од вирулентности соја (Petkov и сар., 2009). Претпоставља се да је опоравак великих бурзалних фоликула продукт формирања *de novo* фоликула насталих пролиферацијом матичних ћелија које су избегле уништење. Иако се морфолошка структура бурзе делимично нормализује, њена функција је ограничена због неповратно пропалих лимфоцита услед размножавања вируса (Kim и сар., 1999).

На месту репликације вируса повећан је прилив активираних Т ћелија (Roopia и Charan, 2004; Rautenschlein и сар., 2002a; Tanimura и Sharma, 1997) које не само да контролишу умножавање вируса у раној фази инфекције, већ и одлажу опоравак ткива бурзе ослобађањем инфламаторних цитокина (Kim и сар., 2000; Rautenschlein и сар., 2002a; Rautenschlein и Naase, 2005).

Поред тога што IBDV активира макрофаге, они су подложни инфекцији вирусом што доводи до смањене фагоцитне активности и имуносупресије (Khatrı и сар., 2005).

Rodenberg и сар. (1994) наводе да IBDV уништава активан развој имуноглобулина IgM у бурзи, а вирулентни сојеви могу погодити Б ћелије у другим лимфоидним органима: слезени, тимусу, Хардеровој жлезди.

IBDV у цревима делује на интраепителијалне лимфоците што утиче на смањену секрецију имуноглобулина IgA. Смањена одбрамбена способност омогућава продор разних патогена и развијање секундарних инфекција (Wang и сар., 2009б).

Инфекција са ИБДВ смањује способност пилића да одговоре на жив инактивисан вирус Newcastle болести, смањује примарни као и секундарни имунолошки одговор, повећава осетљивост пилића према инфекцији упркос претходној вакцинацији и продужава екскрецију вируса после инфекције (Pattison, 1974). Деструкција Б ћелија и макрофага су вероватно главни фактори који доводе до имуносупресије код IBDV инфекције (Kim и сар., 1998), а уједно је и узрок слабијег имунског одговора на вакцину против Newcastle болести (Rautenschlein и сар., 2007).

Khan и сар. (1998) и Аууб и сар., (2003) извештавају да све вакцине против Гамборо болести имају имуносупресивни ефекат на висину HI титра антитела против NDV.

2.5. BURSA FABRICII

Burza Fabricii (БФ) један је од централних органа имунолошког система код птица у којој се одвија ћелијска диференцијација лимфоцита. Има облик кестена, беличасте је боје, налази се у леђном делу клоаке и отворена је у проктодеуму (Akter и сар., 2006). Достиже величину до 3 cm и укупну површину 10 cm (Ponvert и сар., 1991). Максималну величину достиже од 8-10 недеља старости, када почиње да инволуира, што се завршава са 6-7 месеци старости (Cigiaco и сар., 2003). Важна је за нормалан развој Б лимфоцита и производњу антитела.

Glick и сар. (1956) извештавају да хируршко одстрањивање бурзе из неонаталних пилића доводи до смањене производње антитела која су одговорна за "О"антиген *Salmonellae Typhimurium*.

Жлезду је открио 1621. Године др Hieronimus Fabricius(1537-1619), професор анатомије у Падови, мислећи да је то место где се сакупља семена течност (Adelmad,1967). Jollu (1915) је описује као "дорзални дивертикулум у прокталном делу клоаке". Прецизна функција ове жлезде била је тајна до 1956. године, када је објављен рад "The bursa of Fabricius and antibody production" Bruce Glick, Timothy C. Chang, George P. Jaar, у ком аутори извештавају да је жлезда важна за нормална развој Б лимфоцита.

Бурза у свом развоју има три фазе :

- фаза брзог раста од излегања до 3.недеље старости,
- од 4.- 8. недеље старости је плато фаза,
- после 8. недеље фаза регресије.

Бурза у свом развоју пролази кроз упадљиво брзе промене, укључујући брзи развој од касне ембриогенезе до после излегања, па до дегенерације после сексуалне зрелости (Luna и сар., 2008). Овај епителни лимфоидни орган се може наћи само код птица код којих има улогу централног имунолошког органа (Rodriguez-Mendez и сар., 2010). Развија се као дорзални дивертикулум клоаке са којом је повезана кратким каналом. Максимум развоја достиже између 5-11 недеље. За то време бурза је величине трешње смештена у карличној дупљи и садржи око 100 000 фоликула.

Одговорна је за сазревање и диференцијацију Б лимфоцита који учествују у хуморалном имунолошком одговору, а доказана је и њена фагоцитна способност (Ekino и сар.1985). Из екстракта бурзе је изолован трипептидни хормон - бурзопетин или бурзин, који индукује Б-ћелијску диференцијацију (Brandet и сар., 1976; Audhua и сар., 1991; Audhua и сар. 1986). Луче га дендритичне ретикуларне ћелије унутар фоликула, лоциране у епителним ћелијама између кортекса и медуле.

Развитак ове жлезде је под контролом хипофизе (Јанковић и сар. 1981), код хипофизектомисаних пилећих ембриона она је недовољно развијена са смањеним бројем фоликула. Различити утицаји из околине као што су стрес, лоша хигијена и вакцинација, утичу на њен анатомски и физиолошки развој (Alloui и сар.,2005).Нормална маса бурзе бројлера износи око 0,3% њихове телесне масе док 0,1% већ указује на инфекцију (McMullin, 2004).

Лимфоидне матичне ћелије мигрирају из јетре фетуса током онтогенезе у бурзу где стичу обележја зрелих имунокомпетентних Б ћелија (Khenepou и сар. 2012). Прве хематопетичне ћелије се формирају врло рано у жуманцетној кеси. Ове стем ћелије – хемцитобласти насељавају два примарна лимфоидна органа: тимус и Фабрицијусову бурзу. Још давне 1967. године, Moore и Owen налазе хемцитобласте у бурзи ембриона старог тринаестог дана, а већ четрнаестог дана почиње њихова диференцијација у лимфоидне ћелије које садрже IgM. Ова

популација лимфоцита дели се у просеку на сваких осам сати (Rubin и сар., 1971). У ембриону старом дванаестог дана бурза је величине 3,0-3,2 mm од када се њена величина повећава до 8. недеље старости (8,12 mm) када почиње њена инволуција (Verma и сар., 1999). Инволуција је комплетна 26. недеље старости, а у 28. недељи је уочљив само траг бурзе (Bickford и сар.1985). Glick (1988) наводи да је зид бурзе изграђен од следећих слојева:

- слузокожа (*tunica mucosa*) која се састоји од цилиндричних ћелија,
- мишићни слој (*tunica muscularis*) који се састоји од глатких мишићних влакана,
- сероза (*tunica serosa*) која је повезана са глатким мишићним влакнима.

Слузокожа има 11-13 набора који проминирају у лумен чија је површина покривена цилиндричним епителом који лучи слуз у лумен бурзе, па се зато овај епител назива и интерфоликуларни епител (Olah и Glick, 1992; Davenport и Allen 1995; Nagy и сар., 2001). Сваки од примарних набора садржи 6-7 секундарних набора. Епителне ћелије су повезане у фоликуле који су јасно одвојени од суседног лимфоидног ткива везивним ткивом, ћелијама и интерцелуларним простором (Akter и сар., 2006). У примарном фоликулу се формира око 40-60 лимфоидних фоликула који су одвојени везивним ткивом, малим крвним судовима и капиларима (Starcus и сар.,2011). Сваки бурзални фоликул се састоји од периферног кортекса и централне медуле који су одвојени капиларним слојем. Тамно обојени кортекс чине тесно приљубљени мали лимфоцити, лимфобласти и ретикуларне ћелије (Starcus и сар., 2011). Светлија медула на периферији садржи слој недиференцираних епителних ћелија (Glick, 1988). Поред Б ћелија у бурзи се налазе и друге ћелије: макрофаги, дендритичне ћелије и Т лимфоцити (Ridell, 1996). Највећи број лимфоцита потиче од мезенхималних ћелија које мигрирају у лимфоидне фоликуле, у кортикалном и медуларном делу лимфоцити су различитог ступња развоја (Starcus и сар, 2011). У дорзалном делу набора смештене су дифузне накупине Т лимфоцита који чине 5% лимфоидне популације у бурзи (Khan и Hashimoto, 1996).

Бурза има и улогу периферног лимфоидног органа (Eerola и сар.,1987) јер има фагоцитну активност, у наборе спроводи већину фагоцитованих микробних материја које се транспортују у срж (Ekinо и сар., 1985) где индукују имунолошки одговор (Eerola и сар.,1987).

Умножавање вируса у Бурзи Фабрицијус доводи до стварања лезија, а виремија доводи до оштећења и у другим лимфоидним органима: костне сржи, слезине, тимусу и герминалних центара цекалних тонзила (Cheville, 1967). Код пилића инфицираних IBDB изражене су хистопатолошке лезије у медули бурзе у виду дегенерације и некрозе лимфоцита праћених инфилтрацијом ретикуларних ћелија (Luengo и сар., 2001). Lukert и Saif (2004) саопштавају да БФ инфицираних пилића показује макроскопске и микроскопске промене, три дана после инфекције се повећава њена величина и маса услед едема и хиперемije, а жути желатинозни трансудат облаже површину серозе. Петог дана БФ се враћа на своју почетну

величину, али се наставља атрофија. Фаза опоравка може трајати до 35 дана у зависности од вируленције вируса.

Након природне инфекције IBD вирус се прво умножава у лимфоцитима и макрофагима дуоденума, јејунума и цекума а затим у незрелим Б лимфоцитима бурзе фабрицијус и у мањој мери у другим лимфоидним органима као што је слезена (Rautenschlein, 2001) и тимус (Tanimura и сар., 1994). Патохистолошке промене се дешавају и у слезени (Hoque и сар., 2001). Uddin и сар., (2012) извештавају да је код пилића инфицираних са IBDV број лимфоцита у слезени значајно мањи и у црвеној и у белој пулпи са тежим оштећењима у герминалном центру у белој пулпи.

Умножавање вируса свој максимум достиже између 3. и 5. дана након инфекције. У бурзи се дешавају некроза, апоптоза лимфоидних ћелија, инфламаторне промене, атрофија и хеморагије (Kim и сар, 2000; Taylor и сар, 2008). Резултати ранијих студија указују на корелацију између умножавања вируса и апоптозе бурзалних ћелија (Jungmann и сар., 2001). Осим у лимфоцитима, вирални геном се детектује у макрофагима 3,5-7 дана од инфекције (Khatri и сар, 2005). Вирусну репликацију прати и инфилтрација интрабурзалних Т ћелија које су важне за деструкцију вируса и опоравак од инфекције (Kim и сар, 2000).

Интензитет патохистолошких промена које се дешавају у бурзи након примене вакцина против IBD, може да се користи за процену степен имуне заштите (Abdel-Alim и Saif, 2001). Бурза фабрицијус реагује на вакцинални вирус интермедијарног соја на следећи начин (Starciuc и сар., 2011):

- 10 дана после апликације лимфоидни фоликули су добро развијени са јасно разграниченим интерфоликуларним простором. Епително ткиво бурзе се састоји од слојевитих епителних ћелија, углавном цилиндричног типа. Интерфоликуларни простор је испуњен серозном течношћу која садржи лимфоците и плазма ћелије.
- 20 дана после апликације у централном делу лимфоидних фоликула се налазе много малих и великих лимфоцита, а у периферном делу су лимфоцити у малом проценту уништени. Унутар интерфоликуларног простора се виде серозно крвава подручја.
- 30 дана после вакцинације бурза има нормалну структуру. Лимфоидни фоликули су испуњени лимфоцитима разних облика.

Вакцинација врућим сојем вакцине доводи до следећих патохистолошких промена у бурзи:

- 10 дана после вакцинације у интерфоликуларном простору се налази ексудат и крвави коагулуми, плазмоцити и лимфоцити. Серозно крвави изливи се виде у периферним деловима лимфних фоликула. Епително ткиво је делимично оштећено.

- 20 дана после вакцинације у неким лимфоидним фоликулима плазма ћелије су у фази кариолизе и кариопикнозе. У интерлобуларном простору су концентрисани макрофаги и лимфоцити.
- 30 дана после вакцинације хистолошке промене су сличне као и промене 20 -ог дана.
- Лимфоидни фоликули се састоје од великог броја лимфоидних ћелија са значајном израженом кариолизом, кариопикнозом. Промене у кортикалној регији лимфоидних фоликула су мање изражене.
- 40 дана после вакцинације лимфоидни фоликули садрже доста вакуола, деструктивних елемената епителног ткива. Интерфоликуларни простор је испуњен серозно- хеморагичним ексудатом.

3. ЦИЉ И ЗАДАЦИ ИСТРАЖИВАЊА

3.1. Циљ истраживања

Да би се спречили губици које проузрокује појава Гамборо болести у бројлерској производњи пилића, потребно је успешно спровести програм вакцинације и направити прави избор вакцине.

У овој докторској дисертацији, постављени су следећи циљеви:

- Утврдити која од три различите интермедијарне вакцине против Гамборо болести индукује најбољи имунолошки одговор испитиваних јединки,
- Испитати да ли примена интермедијарних вакцина доводи до оштећења Фабрицијусове бурзе и слезине,
- Утврдити да ли примењене вакцине ИБДВ делују имуносупресивно на развој имунолошког одговора према Newcastle болести, и
- Утврдити да ли примењене вакцине имају негативан утицај на телесну масу бројлера током тога

3.1. Задаци истраживања

Да би се остварили циљеви, постављени су следећи задаци:

- Извршити вакцинацију бројлерских пилића интермедијарним вакцинама (Gumbokal, Nobilis Gumboro D78, Nobilis Gumboro 228E) и вакцином против Newcastle болести (LaSota),
- Утврдити титар матерналних и вакциналних антитела против Гамборо болести и вакциналних антитела против Newcastle болести,
- Пратити промене телесне масе бројлера током тога,
- Одредити релативну масу *bursae Fabricii* и слезине,
- Утврдити вредности бурзалног индекса,
- Хистолошки анализирати Фабрицијусове бурзе и слезине, и
- Статистичка обрада података.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ ИСПИТИВАЊА

4.1. МАТЕРИЈАЛ

4.1.1. Експерименталне јединке

У огледу су коришћени комерцијални бројлери оба пола, који потичу од бројлерских родитељских јата провенијенце Cobb 500, старих 40 недеља. Родитељска јата ванкцинисана су у 2. и 10. Недељи старости путем воде за пиће интермедијарним типом IBDVвакцине. У 18. Недељи родитељска јата добила су мртву IBDV уљну вакцину. Огледни пилићи смештени су у одвојене просторије, појени и храњени *ad libitum*. За исхрану су коришћене комерцијалне смеше за исхрану бројлера, које су задовољавале све техничке нормативе за провенијенцију Cobb 500.

4.1.2. Експериментални дизајн

У инкубаторској станици је након излегања издвојено 400 бројлерских пилића који су подељени у ч .

Бројлери контролне групе К нису имунизовани против Гамборо болести. Од ове групе је четрнаестог дана издвојено 20 бројлера који су вакцинисани против Newcastle болести вакцином Galivet LaSota и служила је као контролна група К1.

Четрнаестог дана старости бројлери огледних група вакцинисани су путем воде за пиће против Гамборо болести по следећем редоследу:

- **Огледна група О1** – вакцином Gumbokal IM SPF (лиофилизована жива вакцина која садржи сој VMG 91)
- **Огледна група О2** –вакцином Nobilis Gumboro D78 (лиофилизована жива вакцина која садржи сој D78)
- **Огледна група О3** – вакцином Nobilis Gumboro 228E (лиофилизована жива вакцина која садржи сој 228E)

Након обављене вакцинације против Гамборо болести огледнегрупе О1, О2 и О3 су подељене у три подгрупе свака са по 25 бројлера:

Огледна група О1:О1-1; О1-2; О1-3

Огледна група О2:О2-1; О2-2; О2-3

Огледна група О3:О3-1; О3-2; О3-3

Против Newcastle болести пилићи су вакцинисани вакцином Galivet LaSota спреј методом по следећем протоколу:

Подгрупе O1-1, O2-1, O3-1 – пет дана после вакцинације против Гамборо болести (19. дана старости)

Подгрупе O1-2, O2-2, O3-2 – седам дана после вакцинације против Гамборо болести (21. дан старости)

Подгрупе O1-3, O2-3, O3-3 – девет дана после вакцинације против Гамборо болести (23. дана старости)

Бројлерима свих огледних група је крв вађена 1, 7, 14, 21, 28 и 35 дана. Стајањем на собној температури су издвојени крвни серуми који су испитивани на висину титра антитела према Гамборо болести ELISA тестом и Newcastle болести тестом инхибиције хемаглутинације (HI).

Упоредо са вађењем крви жртвовано је по једно пиле из сваке огледне групе ради екстирпације бурзе Фабрицијус и слезене за патохистолошка испитивања. Мерење телесне масе бројлера свих група вршено је у предвиђеним временским интервалима.

4.2 МЕТОДЕ ИСПИТИВАЊА

4.2.1. ИМУНОЛОШКА ИСПИТИВАЊА

4.2.1.1 Имуноензимски тест-ЕЛИСА

Вакцине против Гамборо болести су апликоване кроз воду за пиће 14. дана старости. У предвиђеним терминима (први, седми, четрнаести, двадесетпрви и двадесетосми дан) су узимани узорци крви. Крвни серуми су испитивани на присуство антитела против Гамборо болести ЕЛИСА тестом.

Издвојени серуми су инактивисани на 56°C (30 мин.), а затим испитани имуноензимским тестом комерцијалним Flok Chek (IDEXX ,USA) према следећем протоколу:

- Узорци серума се разреде 1:500 са одређеним дилуентом
- На антигеном превучену плочу се стави 100µl неразређене негативне контроле у бунарчиће А1 и А2
- Ставити 100µl неразређене позитивне контроле у бунарчиће А3 и А4
- Ставити 100µl разређеног серума у одговарајуће бунарчиће
- Инкубирати 30 минута на собној температури
- Опрати на испирачу сваки базенчић са приближно 350µl дестиловане воде 3-5 минута
- Додати 100µl антипилећег НПРО коњугата (козијег) у сваки бунарчић и инкубирати 30 минута
- Поновити поступак прања плоче
- Додати 100µl ТМБ раствора у сваки базенчић и инкубирати 15 минута
- Додати 100µl Стоп раствора у сваки базенчић да би се зауставила реакција
- Очитати плочу на абсорбанци чија је вредност 650nm
-

4.2.1.2. Хемаглутинационо инхибициони тест (HI тест)

Против Њукастл болести (NDV) је коришћена вакцина LaSota, жива лиофилизована вакцина која садржи лентогени сој LaSota вируса атипичне куге перади. Вакцина је апликована спреј методом.

Крвни серуми пилића су испитивани у предвиђеним терминима методом инхибиције хемаглутинације (HI тест) на следећи начин:

- 0,025мл ПБС-а се унесе у сваки појединачни бунарчић пластичне микроплоче са V-дном
- 0,025мл серума се улије у први ред свих бунарчића на плочи
- Двоструко серијско разређење од 0,025мл запремине серума се изведе на целој плочи

- Додати 0,025мл вирусне суспензије која садржи 4 ХАЈ у сваки бунарчић и оставити 30 минута на собној температури
- У све бунарчиће додати 0,025мл 1% еритроцита петла и оставити на собној температури 40 минута
- Плоче се читају након 40 минута када се у контролним бунарчићима наталоже еритроцити
- Очитава се тако да се у нагнутој микротитар плочи посматра присутност или одсутност тока у облику сузе са истом брзином који има ток у контролним бунарчићима, који садрже само еритроците (0,025мл) или ПБС (0,05мл).
- HI титар је највећа дилуција серума која комплетно инхибира 4 ХАЈ антигена

4.2.2. Мерење телесне масе пилића

Телесна масе пилића је мерена на дигиталној техничкој ваги. Из свих огедних група је жртвовано по једно пиле. Пилићи су издвајани у посебне боксове где им је била ускраћена храна 24 сата и вода 3 сата пре жртвовања.

4.2.3. Одређивање релативне тежине Фабрицијусове бурзе и слезене и израчунавање бурзалног индекса

Огледни пилићи су након мерења телесне масе жртвовани, екстирпирани Фабрицијусове бурзе и слезене, а затим мерене на дигиталној ваги. Тежина органа је у директној вези са телесном тежином, тако да је релативна тежина органа израчунавана према формули који су дали Singh и сар., (1994) :

Релативна тежина = тежина органа(гр)/телесна тежина(г) x 1000

Израчунавањем вредности бурзалног индекса добијен је степен оштећења Фабрицијусове бурзе према формули коју су дали Lucio и Ницнер (1979):

маса БФ огледне групе/телесна маса огледне групе

маса БФ контролне групе/телесна маса контролне групе

За пилиће који имају индекс мањи од 0,7 сматра се да имају атрофију бурзе.

4.2.4. Хистолошко испитивање

Хистолошки препарати бурзе фабрицијус и слезене су урађени конвенционалном методом: ткива суфиксирана у 10% неутралном формалину, дехидрирана у растућој концентрацији алкохола, просветљавана у ксилолу и уклопљена у парафин. Ткива су затим исечена на дебљину од 5µm помоћу ротационог микротомата "Леитз". Од сваког блока прављено је 4-5 листића са

различитих дубинских нивоа. Добијени ткивни листићи обојени су хематоксилин еозином и микроскопирани.

4.2.5. Статистичка анализа података

У статистичкој анализи добијених резултата изведеног експеримента као основне статистичке методе користили смо дескриптивне статистичке параметре. Ови параметри су нам омогућили описивање добијених експерименталних резултата и њихово тумачење. Од дескриптивних статистичких параметара користили смо: аритметичку средину, стандардну девијацију, стандардну грешку, интервал варијације и коефицијент варијације. Приликом тестирања и утврђивања статистички сигнификантних разлика између испитиваних експерименталних група користили смо анализу варијансе (ANOVA). За појединачна поређења сигнификантних разлика коришћен је појединачни, Тукеу тест, помоћу кога су установљаване статистички сигнификантне разлике између третмана појединачно. Сигнификантност разлика установљавана је на нивоима значајности од 5 и 1 %. Сви добијени резултати приказани су табеларно и графички. Статистичка анализа добијених резултата урађена је у статистичком пакету PASW Statistics 18 и MS Excel-у.

5. РЕЗУЛТАТИ ИСПИТИВАЊА

Бројлерски пилићи контролне и огледних група били су складне телесне грађе, правилно развијеног коштаног и мишићног ткива, живахног темперамента и добре кондиције. Перје, кожа и видљиве слузнице били су без промена. Током целог експеримента бројлери нису показивали знаке болести нити је било угинућа.

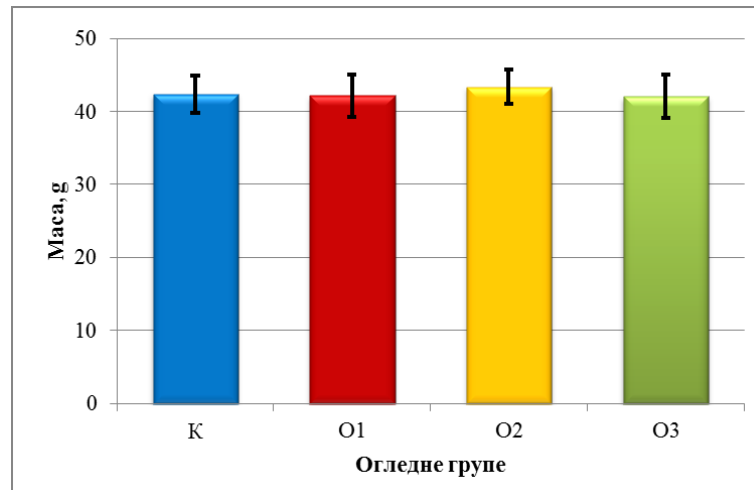
5.1. ТЕЛЕСНА МАСА БРОЈЛЕРА

Резултати мерења телесне масе бројлера првог дана експеримента, приказани су у табели 1 и графикону 1.

Табела 1. Телесна маса бројлера првог дана експеримента, g, n=100

Група	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
К	42,40	2,55	0,81	6,01	47,00	38,00
О1	42,20	2,90	0,92	6,87	47,00	38,00
О2	43,40	2,32	0,73	5,34	47,00	40,00
О3	42,10	2,96	0,94	7,03	46,00	38,00

Просечна телесна маса бројлера првог дана експеримента износила је од $42,10 \pm 2,55$ g, колико је утврђено код бројлера експерименталне групе О3, до $43,40 \pm 2,32$ g, колико је утврђено код бројлера експерименталне групе О2. Између просечних вредности телесне масе бројлера првог дана експеримента, између контролне и огледних група бројлера, нису утврђене статистички значајне разлике ($p > 0,05$).



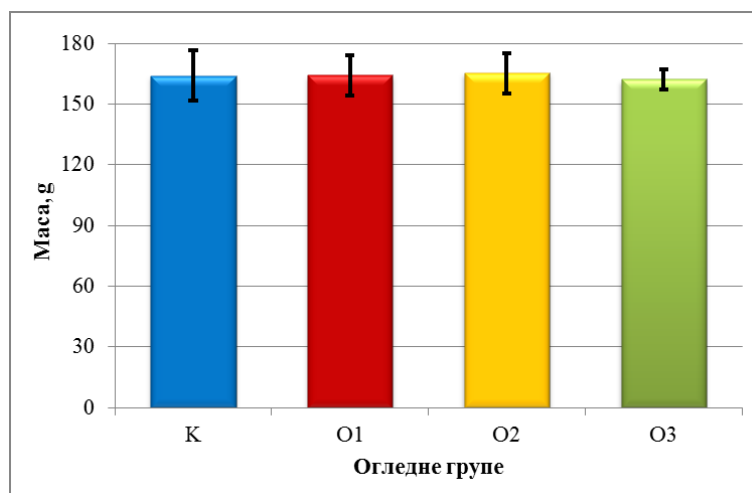
Графикон 1. Просечне вредности телесне масе бројлера првог дана експеримента

Просечна телесна маса бројлера седмог дана експеримента, са параметрима варијације, приказана је у табели 2 и графикону 2.

Табела 2. Телесна маса бројлера седмог дана експеримента, g, n=100

Група	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
К	164,00	12,37	3,91	7,55	189,00	147,00
О1	164,20	9,85	3,16	6,00	180,00	145,00
О2	165,30	9,92	3,14	6,00	184,00	149,00
О3	162,20	4,83	1,53	2,98	170,00	156,00

Телесна маса бројлера била је уједначена и кретала се од $162,20 \pm 4,83$ g, колико је утврђено код бројлера експерименталне групе О3, до $165,30 \pm 9,92$ g, колико је утврђено код бројлера експерименталне групе О2. Између просечних вредности телесне масе бројлера седмог дана експеримента, између огледних група бројлера, нису утврђене статистички значајне разлике ($p > 0,05$).



Графикон 2. Просечне вредности телесне масе бројлера седмог дана експеримента

Резултати мерења телесне масе бројлера четрнаестог дана експеримента, приказани су у табели 3 и графиконима 3, 4, 5 и 6.

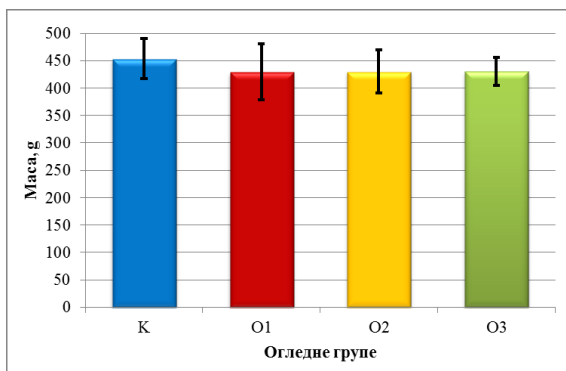
Табела 3. Телесна маса бројлера четрнаестог дана експеримента, g,

Група	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K, n=80	453,30	36,42	11,52	8,37	502,00	399,00
O1, n=25	429,10	51,01	16,13	11,89	502,00	347,00
O2, n=25	430,00	39,64	12,53	9,22	520,00	380,00
O3, n=25	430,30	26,00	8,22	6,04	477,00	386,00
Огледна група O1						
O1, n=25	429,10	51,01	16,13	11,89	502,00	347,00
O1-1, n=25	430,40	41,87	13,24	9,73	490,00	368,00
O1-2, n=25	433,80	34,90	11,04	8,08	466,00	368,00
O1-3, n=25	430,10	27,06	8,56	6,29	430,00	379,00
Огледна група O2						
O2, n=25	430,00	39,64	12,53	9,22	520,00	380,00
O2-1, n=25	432,20	24,65	7,79	5,70	479,00	388,00
O2-2, n=25	431,70	23,65	7,48	5,48	450,00	390,00
O2-3, n=25	429,00	26,46	8,37	6,17	459,00	387,00
Огледна група O3						
O3, n=25	430,30	26,00	8,22	6,04	477,00	386,00
O3-1, n=25	429,10	21,99	6,96	5,13	468,00	397,00
O3-2, n=25	429,50	19,64	6,21	4,57	460,00	399,00
O3-3, n=25	430,20	27,84	8,81	6,47	466,00	378,00

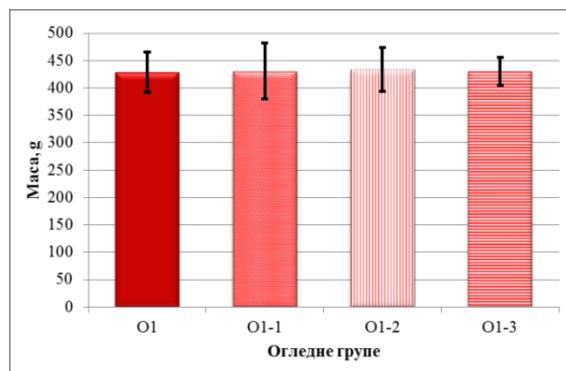
Просечна телесна маса бројлера била је уједначена и између огледних група нису утврђене статистички значајне разлике ($p > 0,05$). Највећа просечна маса утврђена је код бројлера контролне групе (K) и износила је $453,30 \pm 36,42$ g, док је најмања телесна маса утврђена код бројлера друге огледне групе (O2) и износила је $430,00 \pm 39,64$ g.

У оквиру огледне групе O1, телесна маса бројлера кретала се од $430,10 \pm 27,06$ g, колико је утврђено код бројлера треће подгрупе (O1-3), до $433,80 \pm 34,90$ g, колико је утврђено код бројлера друге подгрупе (O1-2). У огледној групи O2, највећа телесна маса бројлера измерена је у подгрупи O2-1 и износила је $432,20 \pm 24,65$ g, а најмања је била код бројлера подгрупе O2-3 и износила је $429,00 \pm 26,46$ g. У огледној групи O3, највећа просечна маса бројлера измерена је у подгрупи O3-3, $430,20 \pm 27,84$ g, а најмања у подгрупи O3-1, $429,10 \pm 21,99$ g.

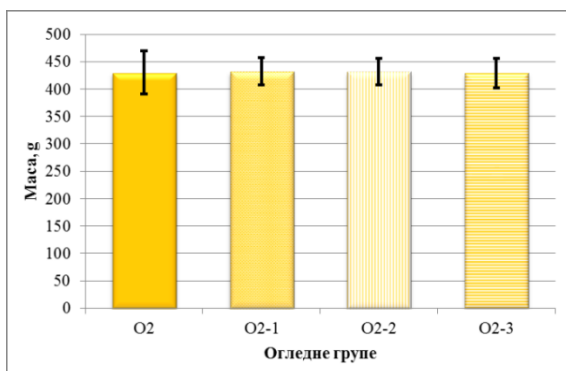
Између телесних маса бројлера свих подгрупа једне огледне групе у односу на огледну групу, као ни између просечних телесних маса бројлера између свих подгрупа различитих огледних група, нису утврђене статистички значајне разлике ($p > 0,05$).



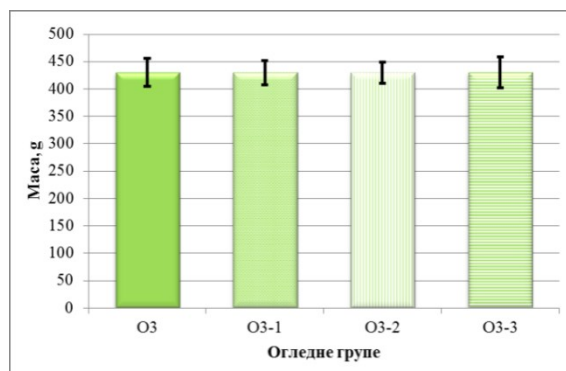
Графикон 3. Просечне вредности телесне масе бројлера четрнаестог дана експеримента



Графикон 4. Просечне вредности телесне масе бројлера огледне групе O1 четрнаестог дана експеримента



Графикон 5. Просечне вредности телесне масе бројлера огледне групе O2 четрнаестог дана експеримента



Графикон 6. Просечне вредности телесне масе бројлера огледне групе O3 четрнаестог дана експеримента

Просечна телесна маса бројлера двадесетпрвог дана експеримента, приказана је у табели 4 и графиконима 7, 8, 9 и 10.

Табела 4. Телесна маса бројлера двадесетпрвог дана експеримента, g, ,

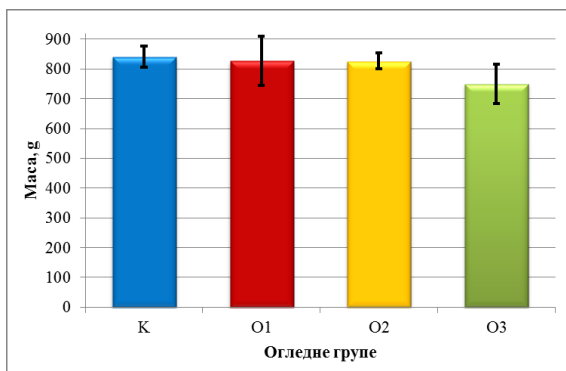
Група	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K, n=80	841,20 ^x	34,86	11,03	4,14	900,00	797,00
O1, n=25	828,00 ^y	82,07	25,95	9,91	965,00	692,00
O2, n=25	826,60 ^z	26,70	8,44	3,23	870,00	788,00
O3, n=25	750,30 ^{xyz}	65,72	20,78	8,76	814,00	625,00
Огледна група O1						
O1, n=25	828,00	82,07	25,95	9,91	965,00	692,00
O1-1, n=25	814,70	52,96	16,75	6,50	879,00	688,00
O1-2, n=25	826,30	28,79	9,10	3,48	866,00	779,00
O1-3, n=25	825,60	23,58	7,46	2,86	858,00	798,00
Огледна група O2						
O2, n=25	826,60	26,70	8,44	3,23	870,00	788,00
O2-1, n=25	789,10	41,80	13,22	5,30	845,00	699,00
O2-2, n=25	820,20	25,07	7,93	3,06	860,00	789,00
O2-3, n=25	822,80	31,26	9,89	3,80	887,00	790,00
Огледна група O3						
O3, n=25	750,30 ^x	65,72	20,78	8,76	814,00	625,00
O3-1, n=25	668,30 ^{xyz}	44,03	13,92	6,59	737,00	596,00
O3-2, n=25	745,40 ^y	33,64	10,64	4,51	805,00	687,00
O3-3, n=25	748,60 ^z	35,93	11,36	4,80	800,00	682,00

Статистичка сигнификантност приказана је истим словима: x, y, z ($p < 0,01$)

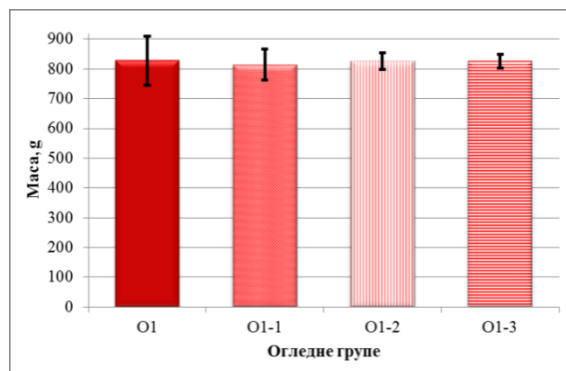
Најмања просечна телесна маса бројлера измерена је у трећој огледној групи (O3) и износила је $750,30 \pm 65,72$ g, што је статистички значајно мања телесна маса у односу на просечну телесну масу бројлера из осталих група ($p < 0,01$). Највећа просечна телесна маса измерена је код бројлера контролне групе (K) и износила је $841,20 \pm 34,86$ g.

Статистички значајне разлике у просечној телесној маси бројлера, утврђене су и код треће огледне групе (O3). Статистички значајно мања просечна телесна маса бројлера ($p < 0,01$) измерена је у првој подгрупи (O3-1) и износила је $668,30 \pm 44,03$ g, док је највећа била код основне огледне групе (O3) и износила је $750,30 \pm 65,72$ g.

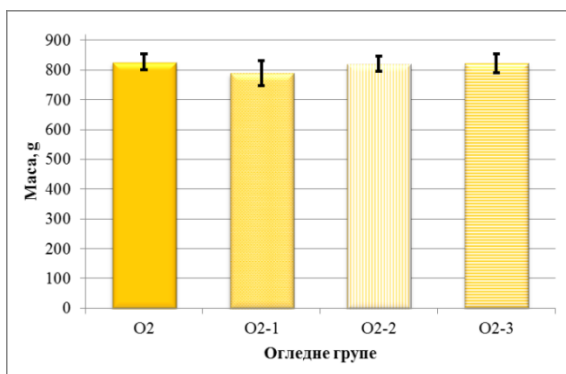
Код прве и друге огледне групе (O1 и O2), телесна маса бројлера била је уједначена и између просечних вредности нису утврђене статистички значајне разлике ($p < 0,1$).



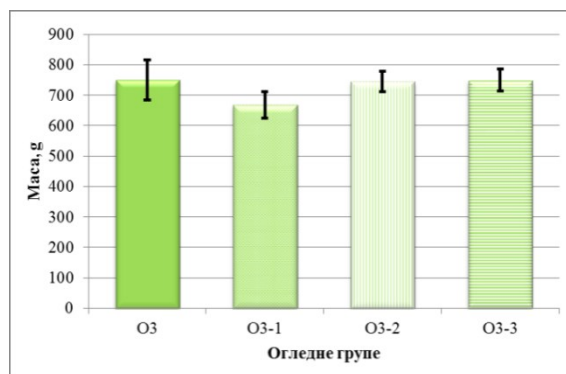
Графикон 7. Просечне вредности телесне масе бројлера двадесетпрвог дана експеримента



Графикон 8. Просечне вредности телесне масе бројлера огледне групе O1 двадесетпрвог дана експеримента



Графикон 9. Просечне вредности телесне масе бројлера огледне групе O2 двадесетпрвог дана експеримента



Графикон 10. Просечне вредности телесне масе бројлера огледне групе O3 двадесетпрвог дана експеримента

Резултати мерења телесне масе бројлера приказани су у табели 5 и графиконима 11, 12, 13 и 14.

Табела 5. Телесна маса бројлера двадесетосмог дана експеримента, g

Група	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K, n=80	1343,00 ^{xyz}	45,09	14,26	3,36	1422,00	1240,00
O1, n=25	1210,00 ^{xq}	112,10	35,45	9,26	1384,00	1030,00
O2, n=25	1181,00 ^{yw}	17,28	5,46	1,46	1200,00	1153,00
O3, n=25	1041,00 ^{zqw}	39,72	12,56	3,82	1107,00	978,00
Огледна група O1						
O1, n=25	1210,00 ^x	112,10	35,45	9,26	1384,00	1030,00
O1-1, n=25	1065,00 ^{xyz}	52,05	16,46	4,89	1154,00	1007,00
O1-2, n=25	1159,00 ^y	38,27	12,10	3,30	1206,00	1109,00
O1-3, n=25	1175,00 ^z	9,71	3,07	0,83	1189,00	1157,00
Огледна група O2						
O2, n=25	1181,00 ^x	17,28	5,47	1,46	1200,00	1153,00
O2-1, n=25	1015,00 ^{xyz}	8,26	2,61	0,81	1033,00	1005,00
O2-2, n=25	1118,00 ^y	11,96	3,78	1,07	1130,00	1092,00
O2-3, n=25	1128,00 ^z	5,40	1,71	0,48	1137,00	1118,00
Огледна група O3						
O3, n=25	1041,00 ^x	39,72	12,56	3,82	1107,00	978,00
O3-1, n=25	920,00 ^{xvz}	30,49	9,64	3,31	967,00	887,00
O3-2, n=25	998,50 ^y	16,02	5,07	1,60	1018,00	978,00
O3-3, n=25	998,20 ^z	9,30	2,94	0,93	1010,00	980,00

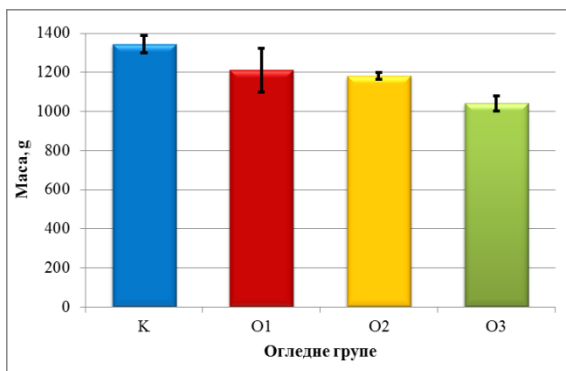
Статистичка сигнификантност приказана је истим словима: x, y, z, q, w ($p < 0,01$)

Највећа просечна телесна маса бројлера утврђена је у контролној групи (K), $1343 \pm 45,09$ g и била је статистички значајно већа ($p < 0,01$) од просечне масе бројлера у првој, другој и трећој огледној групи (O1, O2, O3), у којима је измерена телесна маса бројлера износила $1210,00 \pm 112,10$ g, $1181,00 \pm 17,28$ g и $1041,00 \pm 39,72$ g, истим редом. Такође, статистички значајне разлике ($p < 0,01$) утврђене су између просечних телесних маса бројлера прве, друге и треће огледне групе (O1, O2, O3).

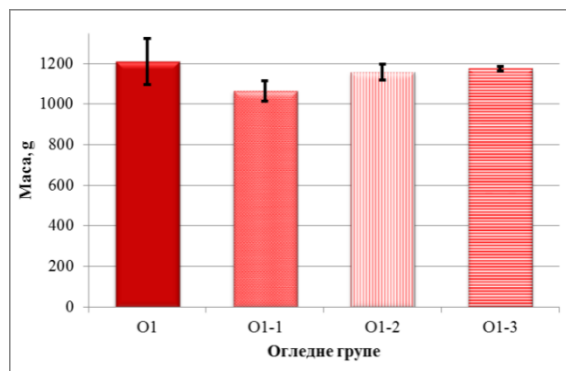
Унутар прве огледне групе O1, најмања просечна маса измерена је код бројлера прве подгрупе (O1-1) и износила је $1065,00 \pm 52,05$ g, што је статистички значајно мања вредност ($p < 0,01$) у односу на основну групу (O1) у којој је просечна маса била $1210,00 \pm 112,10$ g и другу и трећу подгрупу (O1-2, O1-3), у којима је просечна маса бројлера била $1159,00 \pm 38,27$ g и $1175,00 \pm 9,71$ g.

У првој подгрупи (O2-1) друге огледне групе (O2), просечна телесна маса бројлера износила је $1015,00 \pm 8,26$ g, што је било статистички значајно мање ($p < 0,01$) од просечне телесне масе бројлера основне групе (O2), $1181,00 \pm 17,28$ g и од просечне масе бројлера друге и треће подгрупе (O2-2, O2-3), у којима је просечна маса бројлера износила $1118,00 \pm 11,96$ g и $1128,00 \pm 5,40$ g, истим редом.

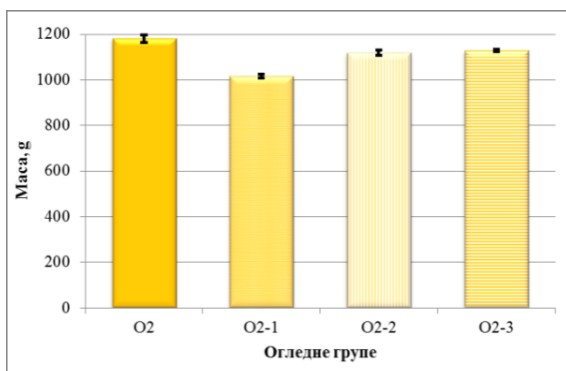
У трећој огледној групи (O3) била је слична ситуација. Просечна маса бројлера прве подгрупе (O3-1) која је износила $920,00 \pm 30,49$ g, била је статистички значајно мања ($p < 0,01$) у односу на просечну масу бројлера основне групе (O3), у којој је просечна маса бројлера била $1041,00 \pm 39,72$ g, и у односу на просечну масу бројлера друге и треће подгрупе (O3-2, O3-3) која је износила $998,50 \pm 16,02$ g и $998,20 \pm 9,30$ g, истим редом.



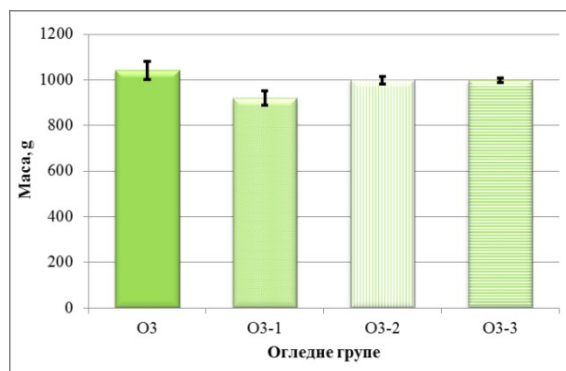
Графикон 11. Просечне вредности телесне масе бројлера двадесетосмог дана експеримента



Графикон 12. Просечне вредности телесне масе бројлера огледне групе O1 двадесетосмог дана експеримента



Графикон 13. Просечне вредности телесне масе бројлера огледне групе O2 двадесетосмог дана експеримента



Графикон 14. Просечне вредности телесне масе бројлера огледне групе O3 двадесетосмог дана експеримента

Резултати испитивања телесне масе бројлера у експерименталним групама, приказани су у табели 6 и графиконима 15, 16, 17 и 18.

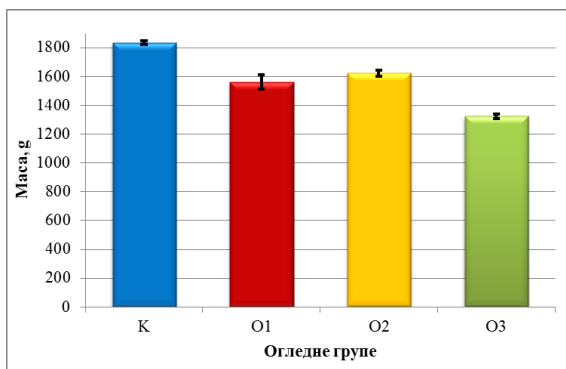
Табела 6. Телесна маса бројлера тридесетпетог дана експеримента, g

Група	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K, n=80	1834,00 ^{xyz}	13,55	4,28	0,74	1855,00	1809,00
O1, n=25	1561,00 ^{xqw}	49,57	15,67	3,18	1645,00	1492,00
O2, n=25	1622,00 ^{yqp}	23,42	7,41	1,44	1660,00	1596,00
O3, n=25	1321,00 ^{zwp}	15,81	5,00	1,20	1340,00	1298,00
Огледна група O1						
O1, n=25	1561,00 ^{xyz}	49,57	15,67	3,18	1645,00	1492,00
O1-1, n=25	1321,00 ^{xqw}	48,01	15,18	3,63	1408,00	1265,00
O1-2, n=25	1438,00 ^{yq}	41,29	13,06	2,87	1520,00	1378,00
O1-3, n=25	1451,00 ^{zw}	40,17	12,70	2,77	1510,00	1399,00
Огледна група O2						
O2, n=25	1622,00 ^{xyz}	23,42	7,41	1,44	1660,00	1596,00
O2-1, n=25	1330,00 ^{xq}	30,60	9,68	2,30	1400,00	1299,00
O2-2, n=25	1380,00 ^y	20,22	6,39	1,46	1410,00	1357,00
O2-3, n=25	1401,00 ^{zq}	12,15	3,84	0,87	1420,00	1382,00
Огледна група O3						
O3, n=25	1321,00 ^{xyz}	15,81	5,00	1,20	1340,00	1298,00
O3-1, n=25	1088,00 ^{xqw}	46,65	14,75	4,29	1134,00	998,00
O3-2, n=25	1199,00 ^{yq}	51,10	16,16	4,26	1277,00	1078,00
O3-3, n=25	1215,00 ^{zw}	19,96	6,31	1,64	1257,00	1195,00

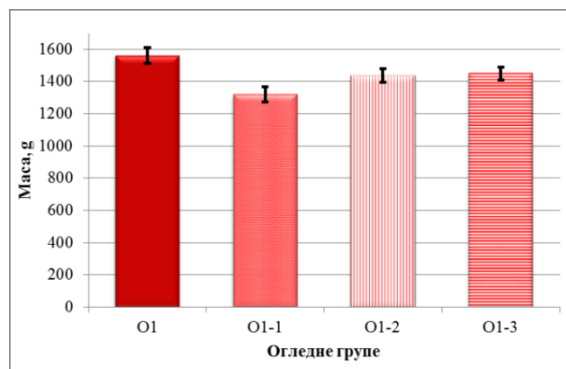
Статистичка сигнификантност приказана је истим словима: x, y, z, q, w, p (p < 0,01)

Код бројлера контролне групе (K), измерена је највећа телесна маса, која је износила $1834,00 \pm 13,55$ g и била је статистички значајно већа ($p < 0,01$) од телесне масе бројлера у остале три огледне групе (O1, O2, O3), у којима је просечна маса бројлера износила $1561,00 \pm 49,57$ g, $1622,00 \pm 23,42$ g и $1321,00 \pm 15,81$ g, истим редом.

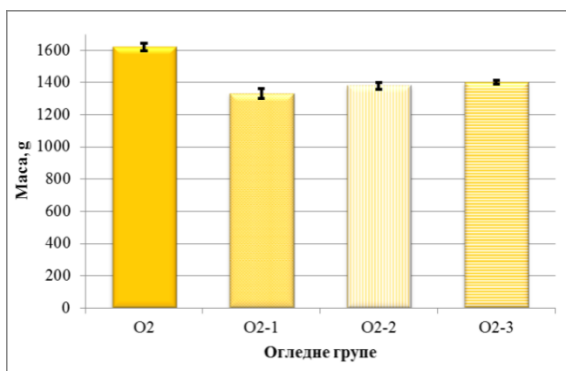
Унутар све три огледне групе (O1, O2, O3), код подгрупе 2, измерена је најмања телесна маса бројлера и просечно је износила $1321,00 \pm 48,01$ g код подгрупе O1-1, $1330,00 \pm 30,60$ g код подгрупе O2-1 и $1088,00 \pm 46,65$ g код бројлера подгрупе O3-1. Измерене просечне телесне масе бројлера у подгрупата, биле су статистички значајно мање од просечне теесне масе бројлера у основној групи ($p < 0,01$).



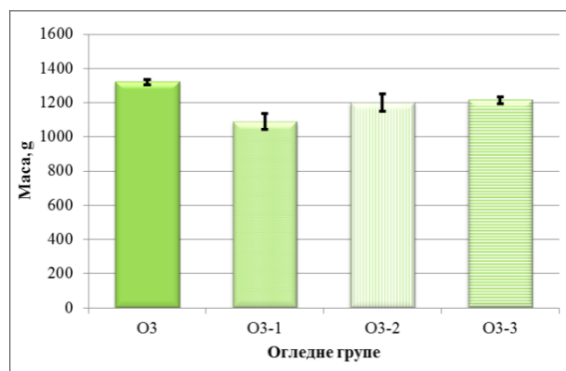
Графикон 15. Просечне вредности телесне масе бројлера тридесетпетог дана експеримента



Графикон 16. Просечне вредности телесне масе бројлера огледне групе O1 тридесетпетог дана експеримента



Графикон 18. Просечне вредности телесне масе бројлера огледне групе O2 тридесетпетог дана експеримента



Графикон 19. Просечне вредности телесне масе бројлера огледне групе O3 тридесетпетог дана експеримента

Просечна телесна маса бројлера четрдесетдругог дана у експерименталним групама и параметри варијације, приказани су у табели 7 и графиконима 20, 21, 22 и 23.

Табела 7. Телесна маса бројлера четрдесетдругог дана експеримента

Група	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K, n=80	2334,00 ^{xyз}	76,23	24,11	3,27	2466,00	2219,00
O1, n=25	1911,00 ^{xq}	62,48	19,76	3,27	2009,00	1789,00
O2, n=25	2071,00 ^{yqw}	57,43	18,16	2,77	2154,00	1986,00
O3, n=25	1866,00 ^{3w}	35,72	11,30	1,91	1920,00	1799,00
Огледна група O1						
O1, n=25	1911,00 ^{xyз}	62,48	19,76	3,27	2009,00	1789,00
O1-1, n=25	1571,00 ^{xqw}	37,70	11,92	2,40	1610,00	1490,00
O1-2, n=25	1724,00 ^{yq}	44,49	14,07	2,58	1800,00	1664,00
O1-3, n=25	1736,00 ^{3w}	60,35	19,09	3,48	1812,00	1650,00
Огледна група O2						
O2, n=25	2071,00 ^{xyз}	57,43	18,16	2,77	2154,00	1986,00
O2-1, n=25	1626,00 ^{xq}	48,93	15,47	3,01	1745,00	1579,00
O2-2, n=25	1691,00 ^y	18,27	5,78	1,08	1714,00	1656,00
O2-3, n=25	1730,00 ^{3q}	30,78	9,73	1,78	1800,00	1687,00
Огледна група O3						
O3, n=25	1866,00 ^{xyз}	35,72	11,30	1,91	1920,00	1799,00
O3-1, n=25	1412,00 ^{xqw}	20,81	6,58	1,47	1456,00	1387,00
O3-2, n=25	1495,00 ^{yqa}	28,24	8,93	1,89	1527,00	1452,00
O3-3, n=25	1568,00 ^{3wa}	29,48	9,32	1,88	1606,00	1530,00

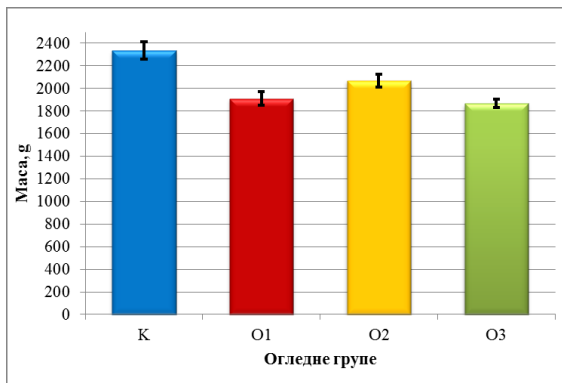
Статистичка сигнификантност приказана је истим словима: x,y,z,q,w ($p < 0,01$); a($p < 0,05$)

Мерењем телесне масе, утврђена је највећа просечна телесна маса код бројлера из контролне групе (K), која је износила $2334,00 \pm 76,23$ g и била је статистички значајно већа ($p < 0,01$) од просечне масе бројлера у огледним групама O1 и O2 и O2 и O3 ($p < 0,01$), у којима је просечна телесна маса бројлера износила $1911,00 \pm 62,48$ g (O1), $2071,00 \pm 57,43$ g (O2) и $1866,00 \pm 35,72$ g (O3). Између просечне телесне масе бројлера група O1 и O3 нису утврђене статистички значајне разлике у ($p < 0,01$).

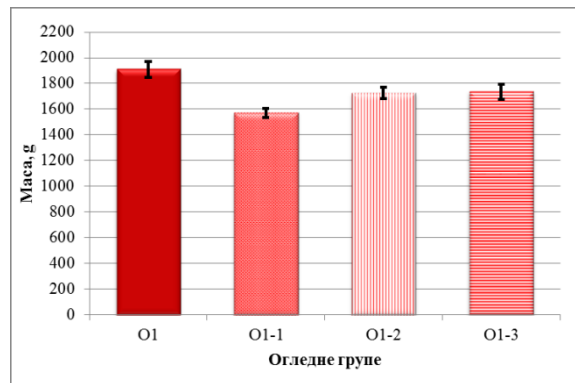
У првој огледној групи, највећа телесна маса бројлера установљена је у основној групи, док су у подгрупама измерене статистички значајно мање ($p < 0,01$) телесне масе бројлера у односу на основну групу (O1) и износиле су $1571,00 \pm 37,70$ g, $1724 \pm 44,49$ g и $1736,00 \pm 60,35$ g, у подгрупама O1-1, O1-2 и O1-3, истим редом. Између просечне масе бројлера подгрупа O1-2 и O1-3 нису утврђене статистички значајне разлике ($p > 0,05$).

У другој огледној групи, такође, највећа просечна телесна маса утврђена је код бројлера основне групе (O2), док је просечна телесна маса бројлера у подгрупама O2-1, O2-2 и O2-3 била статистички значајно мања ($p < 0,01$) у односу на ону утврђену у основној групи и износила је $1626,00 \pm 48,93$ g, $1691,00 \pm 18,27$ g и $1730,00 \pm 30,78$ g, истим редом. Између просечне телесне масе бројлера подгрупа O2-1 и O2-2 нису утврђене статистички значајне разлике ($p > 0,05$).

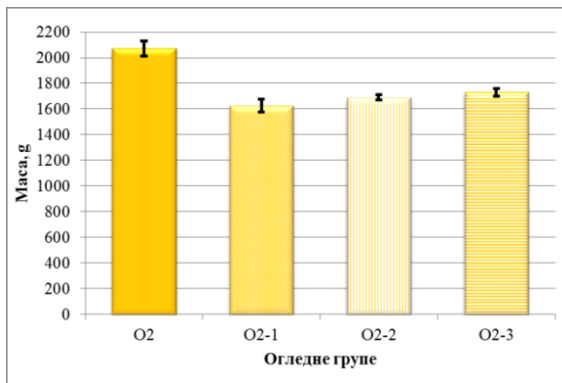
Просечна телесна маса бројлера у трећој огледној групи (O3) била је статистички значајно већа ($p < 0,01$) у односу на телесну масу бројлера у подгрупама O3-1, O3-2 и O3-3, у којима је она износила $1412,00 \pm 20,81$ g, $1495,00 \pm 28,24$ g и $1568,00 \pm 29,48$ g, истим редом. Између просечних телесних маса бројлера подгрупа O3-1 и O3-2 нису утврђене статистички значајне разлике, док је између просечних телесних маса бројлера подгрупа O3-2 и O3-3 утврђена статистички значајна разлика ($p < 0,05$).



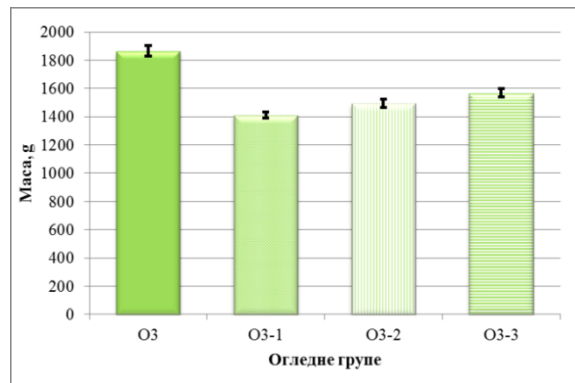
Графикон 20. Просечне вредности телесне масе бројлера четрдесетдругог дана експеримента



Графикон 21. Просечне вредности телесне масе бројлера огледне групе O1 четрдесетдругог дана експеримента



Графикон 22. Просечне вредности телесне масе бројлера огледне групе O2 четрдесетдругог дана експеримента



Графикон 23. Просечне вредности телесне масе бројлера огледне групе O3 четрдесетдругог дана експеримента

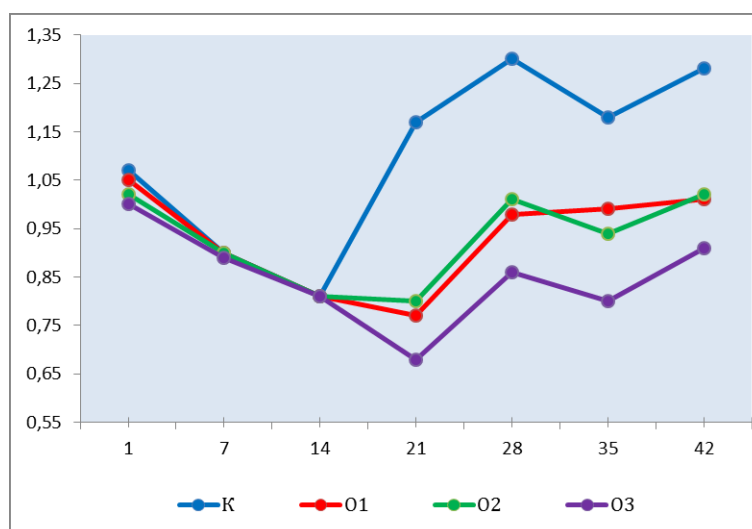
5.2. Релативна маса (RW) *Bursae Fabricii*

Резултати испитивања релативне масе *Bursae Fabricii* бројлера по огледним групама и данима испитивања, приказани су у табели 8 и графикону 24.

Табела бр. 8. Релативна маса *Bursae Fabricii* бројлера по огледним групама и данима испитивања.

Група	Дани						
	1	7	14	21	28	35	42
К, n=80	1,07	0,90	0,81	1,17	1,30	1,18	1,28
О1, n=25	1,05	0,90	0,81	0,77	0,98	0,99	1,01
О2, n=25	1,02	0,90	0,81	0,80	1,01	0,94	1,02
О3, n=25	1,00	0,89	0,81	0,68	0,86	0,80	0,91

Релативна маса *Bursae Fabricii* била је уједначена по данима испитивања код свих експерименталних група и између просечних вредности нису биле утврђене статистички значајне разлике ($p > 0,05$). Вредности за релативну масу *Bursae Fabricii* код бројлера огледне групе кретале су се од 0,81 колико је утврђено седмог дана, до 1,28 колико је утврђено четрдесетдругог дана испитивања. Код огледне групе О1, релативна маса је износила од 0,77 колико је утврђено двадесетпрвог дана испитивања, до 1,05, колико је измерено првог дана испитивања. Код огледне групе О2, релативна маса *Bursae Fabricii* износила је од 0,80, колико је установљено двадесетпрвог дана испитивања, до 1,02, колико је утврђено првог дана испитивања. Релативна маса *Bursae Fabricii* код бројлера огледне групе О3, кретала се од 0,68, колико је утврђено двадесетпрвог дана, до 1,00, колико је утврђено првог дана испитивања. Статистичком анализом установљено је да је релативна маса *Bursae Fabricii* била значајно већа ($p < 0,01$) код бројлера контролне групе (К) у односу на огледне групе О1, О2 и О3, двадесетпрвог, двадесетосмог, тридесетпетог и четрдесетдругог дана испитивања.



Графикон 24. Промене релативне масе *Bursae Fabricii* по огледним групама и данима испитивања

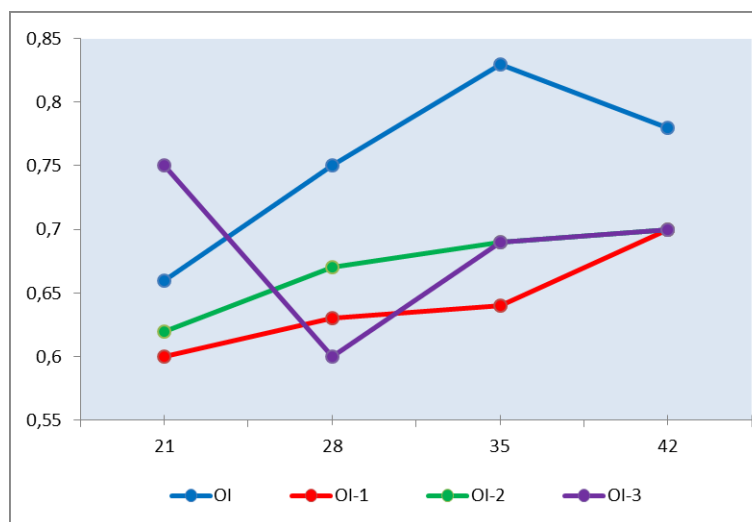
5.3. Бурзални индекс

Резултати испитивања бурзалног индекса бројлера у првој огледној групи О1 и њеним подгрупама, приказани су у табели 9 и графикону 25.

Табела 9. Бурзални индекс у огледној групи групи бројлера О1

Група	Дани			
	21	28	35	42
О1, n=25	0,66	0,75	0,83	0,78
О1-1, n=25	0,60	0,63	0,64	0,70
О1-2, n=25	0,62	0,67	0,69	0,70
О1-3, n=25	0,75	0,60	0,69	0,70

Иако нумерички различите, вредности бурзалног индекса у огледној групи О1 и њеним подгрупама, биле су статистички уједначене, како по данима испитивања, тако и између подгрупа О1-1, О1-2 и О1-3 у односу на основну групу О1, као и између просечних вредности између огледних подгрупа ($p > 0,05$). Највећа вредност бурзалног индекса, установљена је код бројлера основне групе О1 од 0,83, тридесетпетог дана испитивања, док је најмања вредност бурзалног индекса утврђена код бројлера огледне подгрупе О1-1, 0,60, двадесетпрвог дана испитивања.



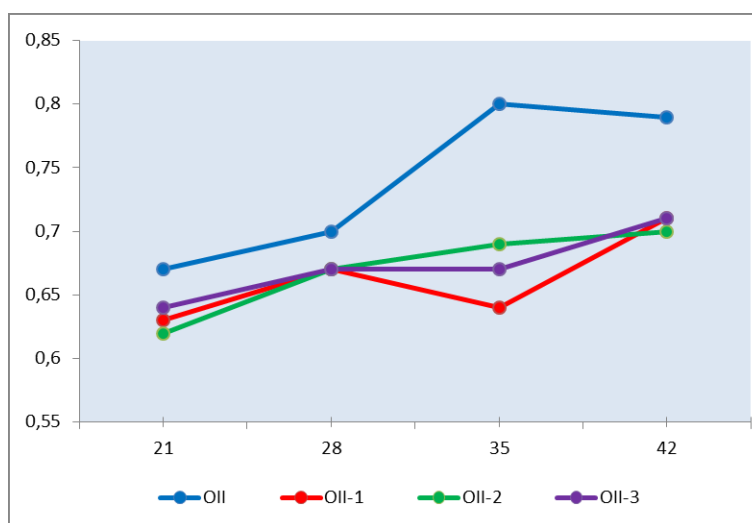
Графикон 25. Промене бурзалног индекса у огледној групи О1 током различитих дана испитивања

Резултати испитивања бурзалног индекса бројлера у другој огледној групи О2 и њеним подгрупама, приказани су у табели 10 и графикону 25.

Табела 10. Бурзални индекс у огледној групи групи бројлера О2

Група	Дани			
	21	28	35	42
О2, n=25	0,67	0,70	0,80	0,79
О2-1, n=25	0,63	0,67	0,64	0,71
О2-2, n=25	0,62	0,67	0,69	0,70
О2-3, n=25	0,64	0,67	0,67	0,71

Највећи бурзални индекс забележен је код бројлера у основној огледној групи О2 и износио је 0,80, тридесетпетог дана испитивања, док је најмањи индекс утврђен код бројлера у огледној подгрупи О2-2, 0,62, двадесетпрвог дана испитивања. Мада су индексне вредности биле различите, односно у основној групи утврђен је највећи бурзални индекс, између испитиваних вредности нису утврђене статистички значајне разлике, како између подгрупа О2-1, О2-2 и О2-3 у односу на основну групу О2, тако ни између испитиваних вредности унутар подгрупа ($p > 0,05$).



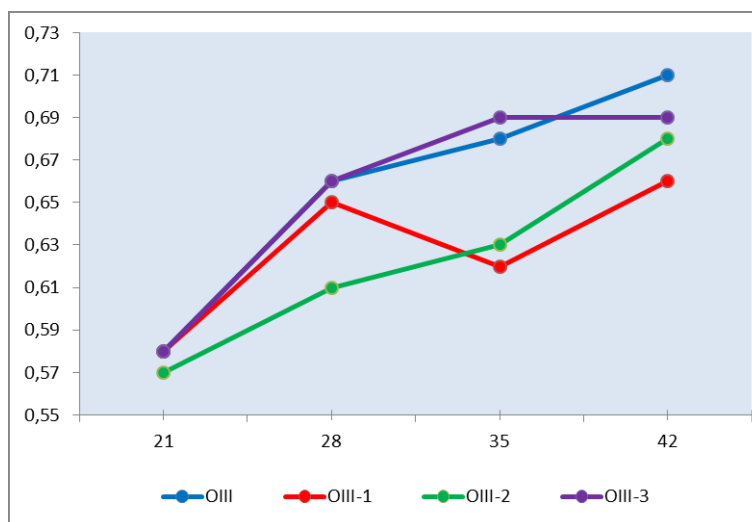
Графикон 25. Промене бурзалног индекса у огледној групи О2 током различитих дана испитивања

Резултати испитивања бурзалног индекса бројлера у трећој огледној групи ОЗ и њеним подгрупама, приказани су у табели 11 и графикону 26.

Табела 11. Бурзални индекс у огледној групи бројлера ОЗ

Група	Дани			
	21	28	35	42
ОЗ, n=25	0,58	0,66	0,68	0,71
ОЗ-1, n=25	0,58	0,65	0,62	0,66
ОЗ-2, n=25	0,57	0,61	0,63	0,68
ОЗ-3, n=25	0,58	0,66	0,69	0,69

Испитивањем бурзалног индекса, утврђено је да је најмања вредност била код основне огледне групе бројлера ОЗ, двадесетпрвог дана испитивања и износила је 0,58, односно код свих подгрупа двадесетпрвог дана, када је износио 0,57 код бројлера подгрупе ОЗ-2 и 0,58 код подгрупа ОЗ-1 и ОЗ-3, што је било статистички значајно мање у односу на вредности бурзалног индекса основне групе ОЗ и подгрупа ОЗ-1, ОЗ-2 и ОЗ-3, осталих дана испитивања ($p < 0,01$). Између осталих вредности бурзалног индекса код бројлера из основне огледне групе и њених подгрупа, од двадесетосмог до последњег дана испитивања, нису утврђене статистички значајне разлике ($p > 0,05$).



Графикон 26. Промене бурзалног индекса у огледној групи ОЗ током различитих дана испитивања

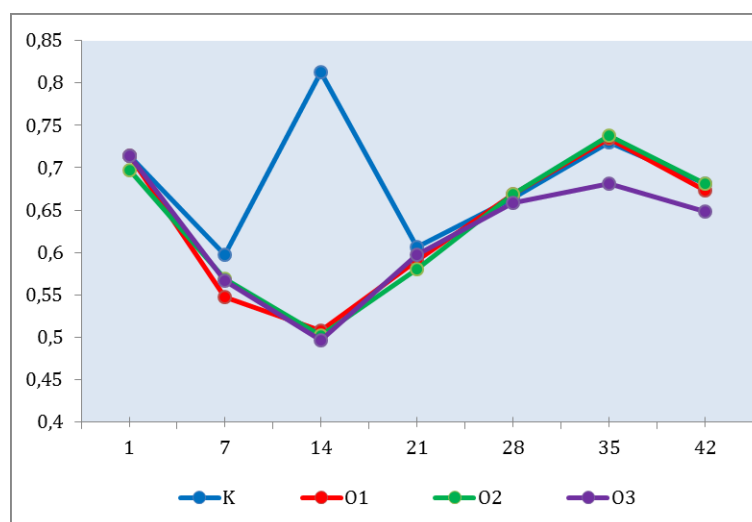
5.4. Релативна маса (RW) слезене

Резултати испитивања релативне масе слезене код бројлера огледних група и промене током свих дана испитивања, приказане су у табели 12 и графикону 27.

Табела 12. Релативна маса слезене бројлера контролне и огледних група

	1	7	14	21	28	35	42
К	0,714	0,597	0,813	0,606	0,664	0,73	0,681
О1	0,714	0,548	0,508	0,591	0,669	0,734	0,673
О2	0,697	0,569	0,502	0,581	0,669	0,738	0,681
О3	0,714	0,567	0,497	0,597	0,659	0,681	0,648

Испитивањем релативне масе слезене, установљено је да је она била статистички значајно различита у свим огледним групама, током различитих дана испитивања ($p < 0,01$). Међутим, статистички значајне разлике нису биле установљене унутар једног дана испитивања, како између релативне масе слезене бројлера огледних група О1, О2 и О3 у односу на бројлере контролне групе К, тако ни између испитиваних група ($p > 0,05$), иако је установљен један пик код бројлера контролне групе К четрнаестог дана испитивања, када је релативна маса слезене износила 0,813.



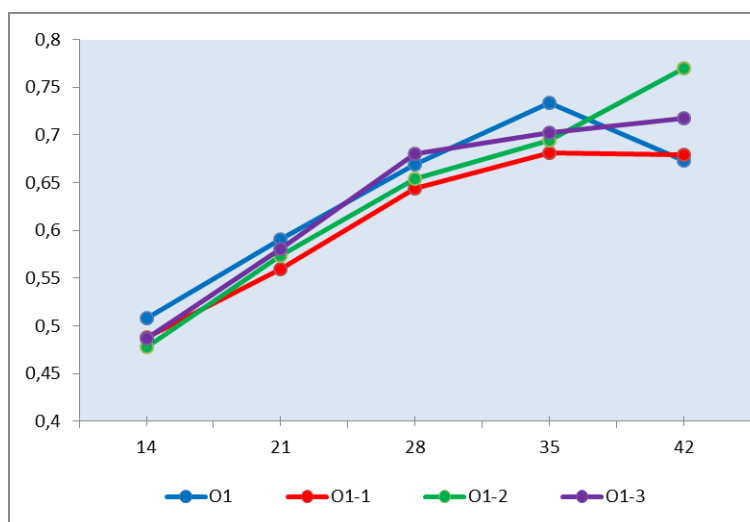
Графикон 27. Промене релативне масе слезене код бројлера огледних група током различитих дана испитивања

Резултати испитивања релативне масе слезене код бројлера огледних група и промене током свих дана испитивања, приказане су у табели 13 и графикању 28.

Табела 13. Релативна маса слезене бројлера огледне групе О1

Дани					
Група	14	21	28	35	42
О1, n=25	0,508	0,591	0,669	0,734	0,673
О1-1, n=25	0,492	0,561	0,638	0,679	0,683
О1-2, n=25	0,478	0,572	0,650	0,688	0,768
О1-3, n=25	0,486	0,584	0,682	0,703	0,717

Статистичком анализом релативне масе слезене у основној огледној групи О1 и подгрупама О1-1, О1-2 и О1-3, утврђено је да не постоје статистички значајне разлике ($p > 0,05$), како унутар подгрупа, тако и између испитиваних подгрупа и основне огледне групе. Такође, нису установљене статистички значајне разлике унутар подгрупа и у подгрупама у односу на основну огледну групу током различитих периода испитивања ($p > 0,05$).



Графикон 28. Промене релативне масе слезене код бројлера огледних група током различитих дана испитивања

Релативна маса слезене, као и промене у релативној маси слезене током појдиних дана испитивања приказани су у табели 14 и графикону 29.

Табела 14. Релативна маса слезене бројлера огледне групе O2

Дани					
Група	14	21	28	35	42
O2, n=25	0,502	0,581	0,669	0,738	0,681
O2-1, n=25	0,492	0,569	0,638	0,672	0,653
O2-2, n=25	0,504	0,573	0,646	0,720	0,709
O2-3, n=25	0,502	0,581	0,668	0,718	0,724

Релативна маса слезене у огледној групи O2 није се статистички разликовала ($p > 0,05$) од релативне масе слезене у подгрупама O2-1, O2-2 и O2-3. Статистички значајне разлике нису утврђене ни унутар огледних група, без обзира на нумеричке разлике ($p > 0,05$). Такође, разлике нису утврђене ни током различитих периода испитивања.



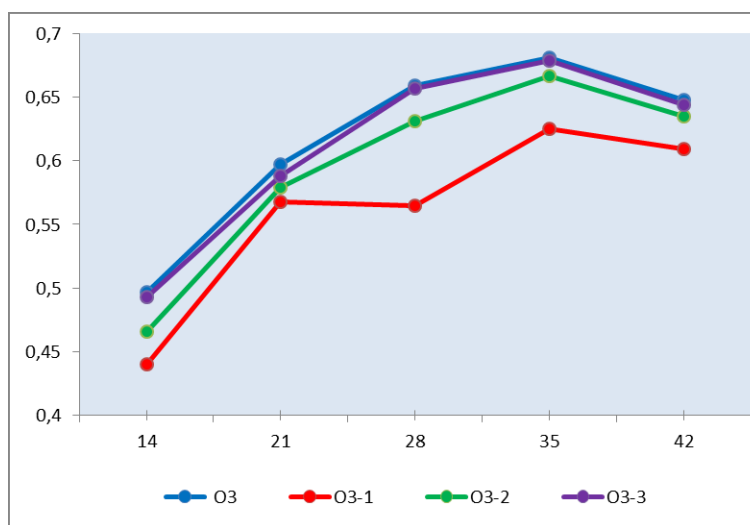
Графикон 29. Промене релативне масе слезене код бројлера огледних група током различитих дана испитивања

У табели 15, приказана је релативна маса слезене код бројлера огледне групе О3, као и релативна маса слезене у подгрупама. Промене релативне масе слезене током појединих дана испитивања, приказане су у графикану 30.

Табела 15. Релативна маса слезене бројлера огледне групе О3

Група	Дани				
	14	21	28	35	42
О3, n=25	0,497	0,597	0,659	0,681	0,648
О3-1, n=25	0,443	0,574	0,572	0,633	0,608
О3-2, n=25	0,472	0,548	0,629	0,671	0,639
О3-3, n=25	0,489	0,591	0,663	0,676	0,640

Статистичком анализом добијених резултата, утврђено је да статистички значајне разлике не постоје између релативне масе слезене током појединих дана испитивања унутар једне групе, односно подгрупе, као ни између релативне масе слезене подгрупа О3-1, О3-2 и О3-3 и основне огледне групе О3, као ни унутар подгрупа ($p > 0,05$).



Графикон 29. Промене релативне масе слезене код бројлера огледних група током различитих дана испитивања

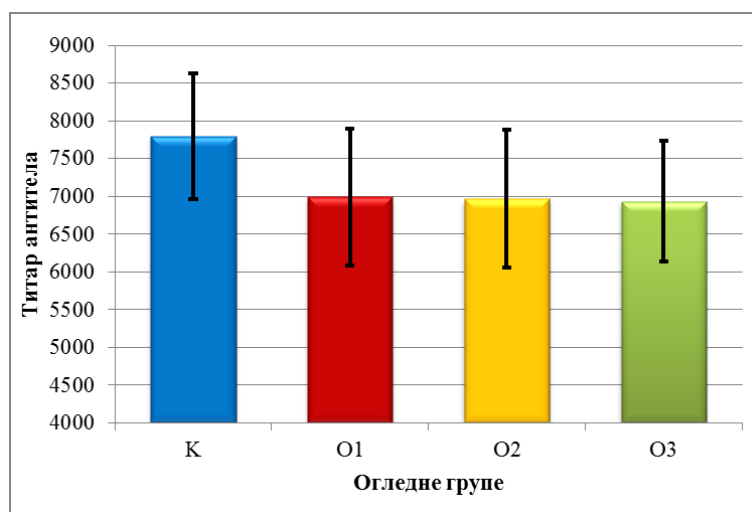
5.5. Висина титра антитела на Гамборо болест

Резултати испитивања висине титра антитела на Гамборо болест код бројлера контролне групе (К) и три огледне групе О1, О2 и О3, приказани су у табелама 16-22 и графиконима 30-34.

Табела 16. Титар антитела на Гамборо болест код бројлера огледних група првог дана старости

Група	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
К, n=80	7791	834,3	263,80	10,71	9008	6592
О1, n=25	6991	908,7	287,30	13,00	8009	5655
О2, n=25	6968	912,5	288,50	13,09	8120	5762
О3, n=25	6936	802,8	253,90	11,57	8002	5652

Статистичком анализом висине титра антитела првог дана експеримента нису установљене сигнификантне разлике ($p > 0,05$), како у случају бројлера огледних група О1, О2 и О3 у односу на бројлере контролне групе К, тако ни између огледних група, иако је титар антитела био највећи код бројлера контролне групе К ($7791 \pm 834,30$).

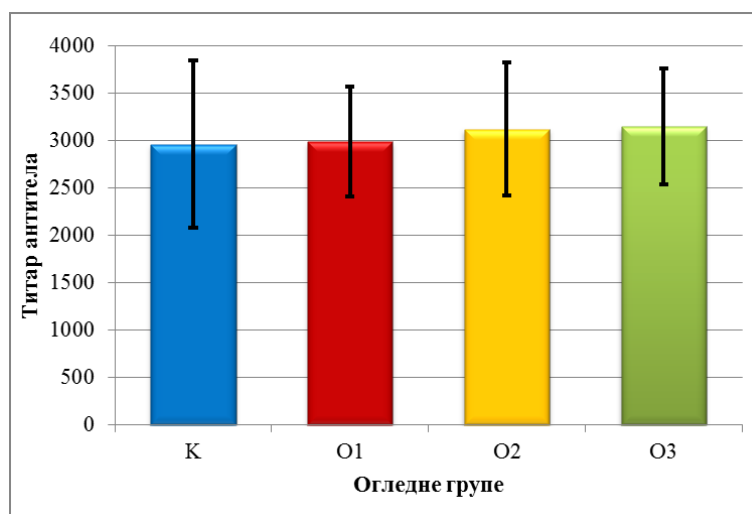


Графикон 30. Просечна вредност титра антитела на Гамборо болест првог дана старости бројлера

Табела 17. Титар антитела на Гамборо болест код бројлера огледних група седмог дана старости

Група	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
К, n=80	2960	883,4	279,30	29,84	4217	1796
О1, n=25	2986	576,9	182,40	19,32	3498	1984
О2, n=25	3121	698,7	220,90	22,39	4213	1865
О3, n=25	3144	610,2	193,00	19,41	4003	2240

Статистичком анализом висине титра антитела седмог дана експеримента нису установљене статистички значајне разлике ($p > 0,05$) мада је овога пута титар антитела био највећи код бројлера огледне групе О3 ($3144 \pm 610,20$). Иако је утврђен висок коефицијент варијације (29,84%), ипак се нумеричке разлике могу приписати случајним варијацијама, јер је коефицијент варијације испод 30%.



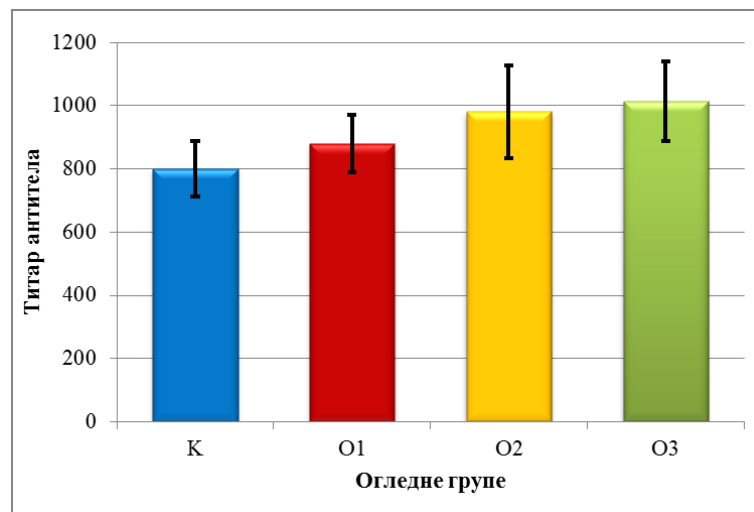
Графикон 31. Просечна вредност титра антитела на Гамборо болест седмог дана старости бројлера

Табела 18. Титар антитела на Гамборо болест код бројлера огледних група четрнаестог дана старости

Група	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
К, n=80	800,2 ^{xy}	88,98	28,14	11,12	940,0	659,0
О1, n=25	880,3	90,94	28,61	10,28	1013	756,0
О2, n=25	980,4 ^x	147,9	46,77	15,09	1328	799,0
О3, n=25	1013 ^y	126,3	39,93	12,47	1201	890,0

Статистичка сигнификантност приказана је истим словима: x,y ($p < 0,01$)

Резултати испитивања указују да је четрнаестог дана старости дошло до појаве статистички значајних разлика у титру антитела на Гамборо болест код бројлера испитиваних огледних група. Највећа вредност утврђена је код бројлера огледне групе О3, $1013 \pm 126,30$, што је било статистички значајно веће од вредности за бројлере контролне групе К код којих је утврђен титар $800,20 \pm 88,98$. Такође, титар антитела на Гамборо болест од $980,4 \pm 147,90$, био је статистички значајно већи од титра антитела утврђеног код бројлера контролне групе К ($p < 0,01$).



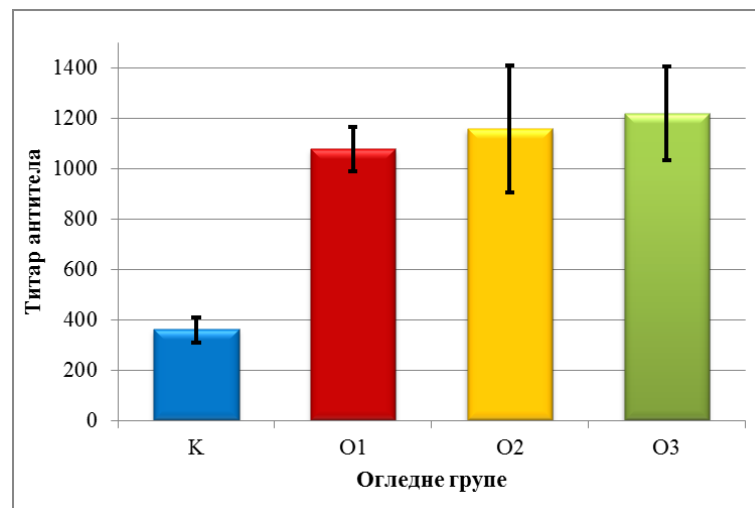
Графикон 31. Просечна вредност титра антитела на Гамборо болест четрнаестог дана старости бројлера

Табела 19. Титар антитела на Гамборо болест код бројлера огледних група двадесетпрвог дана старости

Група	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K, n=80	360,3 ^{xyz}	50,11	15,85	13,91	440,0	294,0
O1, n=25	1077 ^x	87,69	27,73	8,14	1223	985,0
O2, n=25	1157 ^y	250,7	79,27	21,67	1621	942,0
O3, n=25	1218 ^z	186,0	58,83	15,27	1520	968,0

Статистичка сигнификантност приказана је истим словима: x, y, z ($p < 0,01$)

Најнижи титар на Гамборо болест двадесетпрвог дана експеримента, утврђен је код бројлера контролне групе K и износио је $360,30 \pm 50,11$, што је било статистички значајно мање ($p < 0,01$) у односу на титар утврђен код бројлера огледних група O1, O2 и O3, у којима је износио $1077 \pm 87,69$, $1157 \pm 250,70$ и $1218 \pm 186,00$, истим редом. Између просечних вредности титра антитела код бројлера огледних група O1, O2 и O3, нису утврђене статистички значајне разлике ($p > 0,05$).



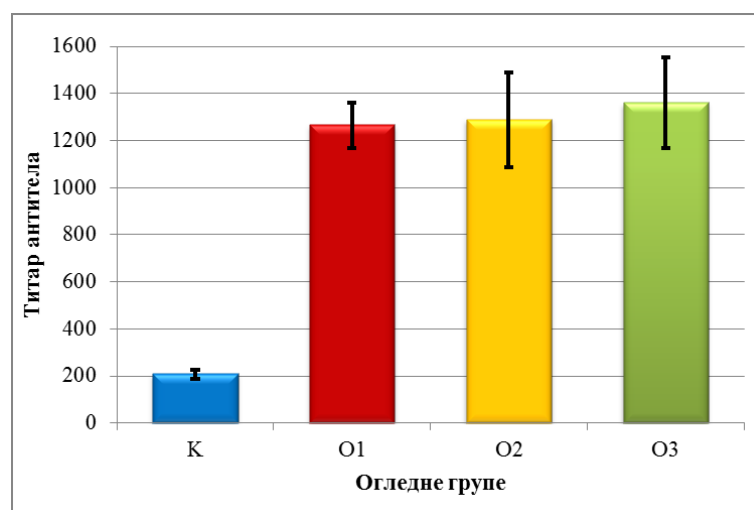
Графикон 32. Просечна вредност титра антитела на Гамборо болест двадесетпрвог дана старости бројлера

Табела 20. Титар антитела на Гамборо болест код бројлера огледних група двадесетосмог дана старости

Група	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
К, n=80	208,6 ^{xy3}	19,17	6,06	9,19	253,0	188,0
О1, n=25	1265 ^x	95,86	30,31	7,58	1433	1066
О2, n=25	1288 ^y	200,0	63,23	15,52	1633	1008
О3, n=25	1360 ³	194,2	93,02	21,63	2012	1022

Статистичка сигнификантност приказана је истим словима: x,y, z(p < 0,01)

Статистичком анализом висине титра антитела двадесетосмог дана експеримента установљен је најмањи титар код бројлера контролне групе К (208,60±19,17), што је статистички значајно мање (p < 0,01) у односу на титар антитела код бројлера огледних група О1 (1265±95,86), О2 (1288±200,00) и О3 (1360±194,20). Висина титра антитела код поређења између осталих огледних група није била статистички значајна (p > 0,05).



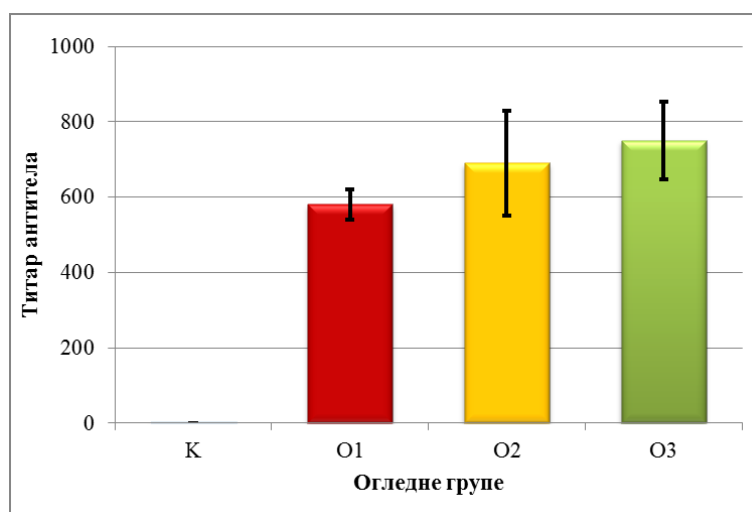
Графикон 33. Просечна вредност титра антитела на Гамборо болест двадесетосмог дана старости бројлера

Табела 21. Титар антитела на Гамборо болест код бројлера огледних група тридесетпетог дана старости

Група	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
К, n=80	0,30 ^{xyz}	0,48	0,15	161,02	1000	0,0
О1, n=25	580,7 ^{xqa}	40,68	12,86	7,00	631,0	512,0
О2, n=25	690,0 ^{ya}	138,9	43,92	20,13	880,0	489,0
О3, n=25	750,0 ^{zq}	104,1	32,90	13,87	913,0	600,0

Статистичка сигнификантност приказана је истим словима: x,y, z, q ($p < 0,01$); a ($p < 0,05$)

Статистичком анализом висине титра антитела тридесетпетог дана експеримента установљен је најмањи готово безначајан титар код бројлера контролне групе К ($0,30 \pm 0,48$) што је статистички значајно мање ($p < 0,01$) у односу на титар антитела код бројлера огледних група О1 ($580,70 \pm 40,68$), О2 ($690,00 \pm 138,90$) и О3 ($750,00 \pm 104,10$). Висина титра антитела код поређења између осталих огледних група такође је значајно различита. Титар антитела код бројлера О1 групе веома је мањи ($p < 0,01$) у односу на титар антитела код бројлера О3 групе, а значајно је мањи ($p > 0,05$) у односу на титар код бројлера у О2 групи.



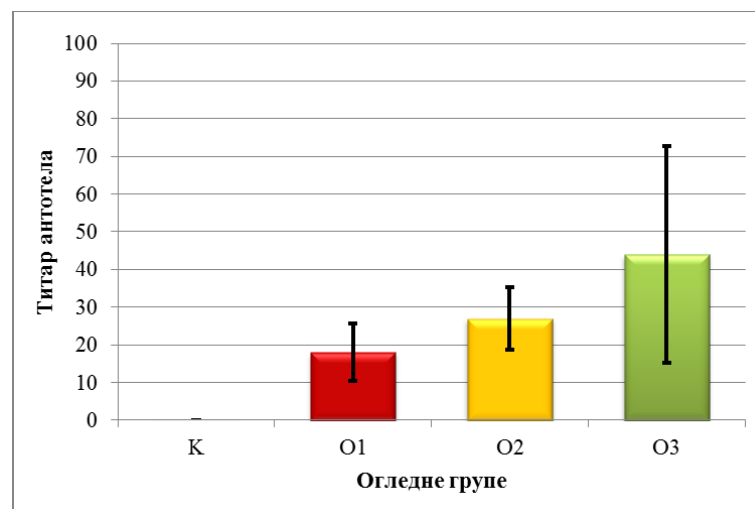
Графикон 34. Просечна вредност титра антитела на Гамборо болест тридесетпетог дана старости бројлера

Табела 22. Титар антитела на Гамборо болест код бројлера огледних група четрдесетдругог дана старости

Група	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
К, n=80	0 ^{xy}	0	0	/	0	0
О1, n=25	18,00 ^z	7,70	2,47	42,79	30,00	4,000
О2, n=25	27,00 ^x	8,41	2,66	31,13	40,00	17,00
О3, n=25	44,00 ^{yz}	28,82	9,11	65,50	94,00	10,00

Статистичка сигнификантност приказана је истим словима: x,y, z(p < 0,01)

Титар антитела на Гамборо болест код бројлера контролне групе није установљен. Код бројлера осталих огледних група О1, О2 и О3, износио је $18,00 \pm 7,70$, $27,00 \pm 8,41$ и $44 \pm 28,82$. Између висине титра антитела бројлера огледних група утврђене су статистички значајне разлике (p < 0,01) и то између бројлера групе О1 и бројлера групе О3, док се просечна висина титра антитела утврђена код бројлера групе О2, није значајно разликовала од висине титра антитела код бројлера групе О1 и групе О3 (p > 0,05).



Графикон 34. Просечна вредност титра антитела на Гамборо болест четрдесетдругог дана старости бројера

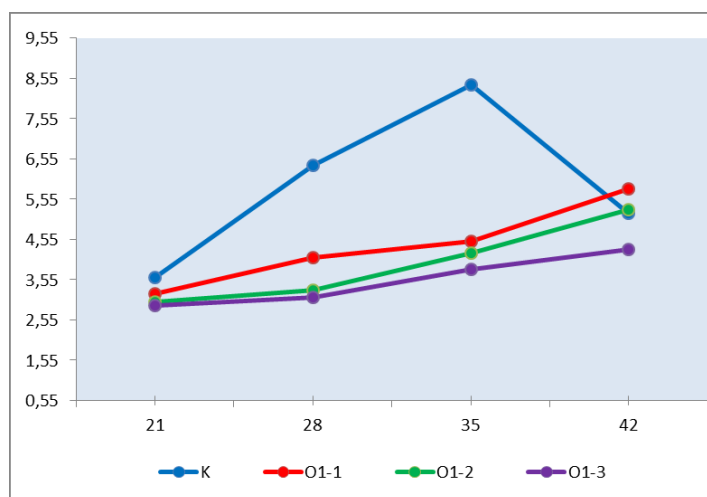
5.6. Титар антитела на Њукастл болест (\log_2)

Табела 23. Титар антитела на Newcastle болест код бројлера контролне групе К1 и подгрупа огледне групе О1 током различитих дана испитивања

Група	Дани			
	21	28	35	42
К1, n=25	3,6	6,4 ^{x,z,q}	8,4 ^{x,z,q}	5,2
О1-1, n=25	3,2	4,1 ^x	4,5 ^x	5,8
О1-2, n=25	3,0	3,3 ^z	4,2 ^z	5,3
О1-3, n=25	2,9	3,1 ^q	3,8 ^q	4,3

Статистичка сигнификантност приказана је истим словима: x, y, z, q ($p < 0,01$)

Највиши просечан титар антитела на Њукастл болест утврђен је код бројлера контролне групе К1 тридесетпетог дана и износио је 8,4, док је најнижа вредност титра утврђена код бројлера О1-3 подгрупе и износила је 2,9 двадесетепрвог дана експеримента. Просечне вредности титра антитела биле су уједначене двадестепрвог и четрдесетдругог дана ($p > 0,05$), док су статистички значајно мање вредности титра утврђене код бројлера огледних група у ондосу на контролну групу двадесетосмог и тридесетпетог дана ($p < 0,01$).



Графикон 34. Промене титра антитела на Њукастл болест код бројлера контролне групе К1 и огледне групе О1 током различитих дана испитивања

Табела 24. Титар антитела на Њукастл болест код бројлера контролне групе К1 и подгрупа огледне групе О2 током различитих дана испитивања

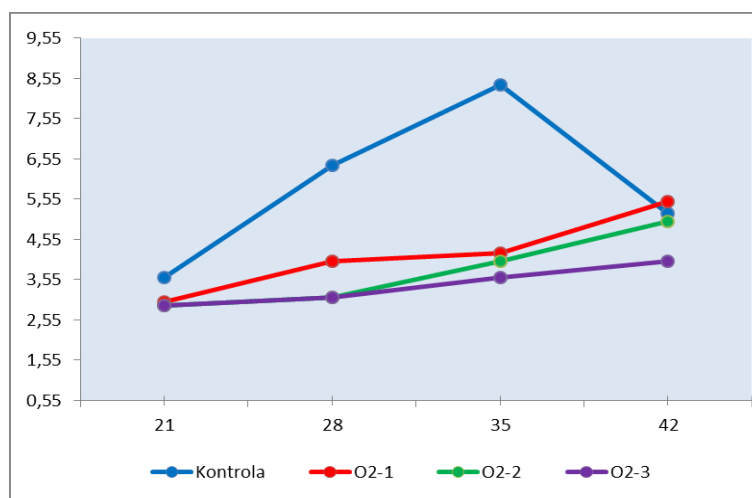
Група	Дани			
	21	28	35	42
К1, n=25	3,6	6,4 ^{x,z,q}	8,4 ^{x,z,q}	5,2
О2-1, n=25	3,0	4,0 ^x	4,2 ^x	5,5
О2-2, n=25	2,9	3,1 ^y	4,0 ^y	5,0
О2-3, n=25	2,9	3,1 ^q	3,6 ^q	4,0

Статистичка сигнификантност приказана је истим словима: x, y, z, q ($p < 0,01$)

Најниже вредности титра антитела на Њукастл болест утврђене су код бројлера огледних подгрупа О2-2 и О2-3 двадесетпрвог дана испитивања (2,9).

Највиши просечан титар антитела утврђен је код бројлера контролне групе К1 тридесетпетог дана и износио је 8,4.

Просечне вредности титра антитела биле су уједначене двадестепрвог и четрдесетдругог дана ($p > 0,05$), док су статистички значајно мање вредности титра утврђене код бројлера огледних група у односу на контролну групу двадесетосмог и тридесетпетог дана ($p < 0,01$).



Графикон 35. Промене титра антитела на Њукастл болест код бројлера контролне групе К1 и огледне групе О2 током различитих дана испитивања

Табела 25. Титар антитела на Њукастл болест код бројлера контролне групе К1 и подгрупа огледне групе О3 током различитих дана испитивања

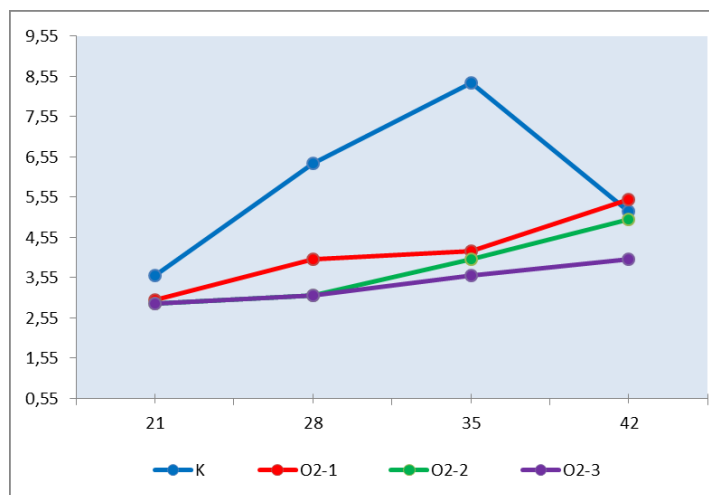
Група	Дани			
	21	28	35	42
К1, n=25	3,6	6,4 ^{x,z,q}	8,4 ^{x,z,q}	5,2 ^{x,z,q}
О3-1, n=25	3,0	3,1 ^x	3,4 ^x	3,2
О3-2, n=25	2,9	2,5 ^y	3,2 ^x	3,6
О3-3, n=25	2,9	2,6 ^q	2,8	3,0

Статистичка сигнификантност приказана је истим словима: x, y, z, q ($p < 0,01$)

Најниже вредности титра антитела на Њукаст болест утврђене су код бројлера огледних подгрупа О3-2 и О3-3 двадесетпрвог дана испитивања (2,9).

Највиши просечан титар антитела утврђен је код бројлера контролне групе К1 тридесетпетог дана и износио је 8,4.

Просечне вредности титра антитела биле су уједначене двадесетпрвог дана ($p > 0,05$), док су статистички значајно мање вредности титра утврђене код бројлера огледних група у односу на контролну групу двадесетосмог, тридесетпетог и четрдесетдругог дана ($p < 0,01$).

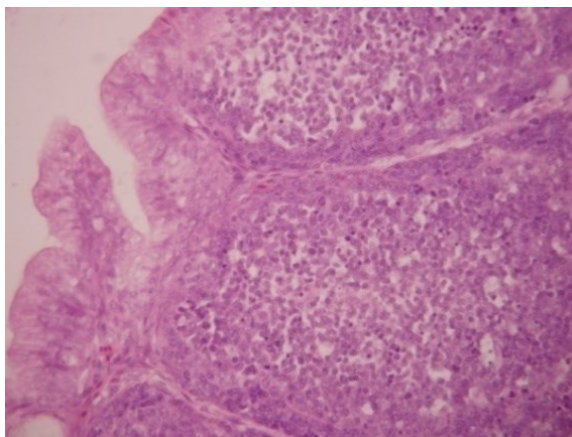


Графикон 36. Промене титра антитела на Њукастл болест код бројлера контролне групе К1 и огледне групе О3 током различитих дана испитивања

5.7.РЕЗУЛТАТИ ХИСТОЛОШКИХ ИСПИТИВАЊА

5.7.1.Хистолошка грађа Фабрицијусове бурзе

На слици 1 приказана је хистолошка структура бурзе невакцинисаних бројлера (контролна група) где се уочава да су лимфоидни фоликули испуњени лимфоцитима и раздвојени везивним ткивом, уочава се интерфоликуларни простор



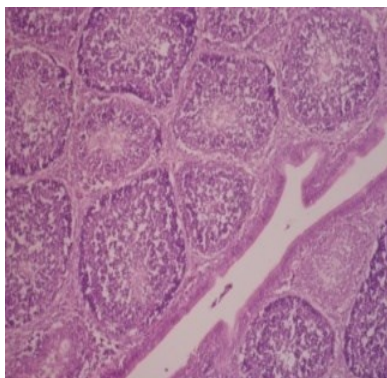
Слика 1. Нормална хистолошка структура бурзе фабрицијус код контролне групе. (Х&Е х40)

- **Промене у Фабрицијусовој бурзи седам дана након вакцинације против Гамборо болести**

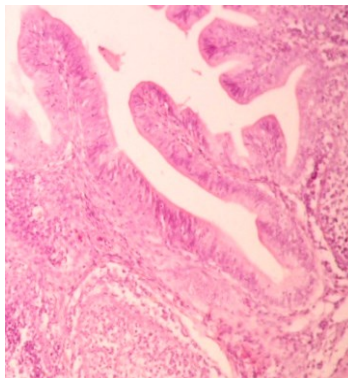
На Слици 2 се уочава атрофија епитела, деплеција лимфоцита, а у интерфоликуларном простору је накупљена серозна течност.

На Слици 3 се уочава атрофија епитела, умерена деплеција и некроза лимфоидних фоликула, у интерфоликуларном простору ексудација серозног садржаја.

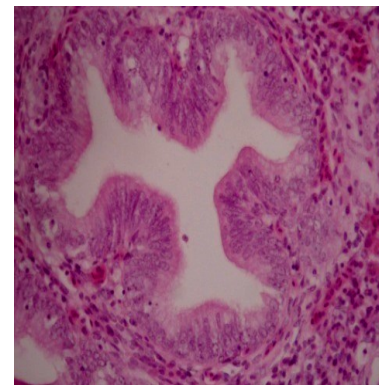
На Слици 4 су уочава лимфоидна деплеција у фоликулима, а интерфоликуларни простор је испуњен хеморагичним ексудатом.



Слика 2



Слика 3



Слика 4

Слика 2. Буза фабрицијус бројлера огледне групе О1. (Х&Е х20)

Слика 3. Буза фабрицијус бројлера огледне групе О2. (Х&Е х20)

Слика 4. Буза фабрицијус бројлера огледне групе О3. (Х&Ех40)

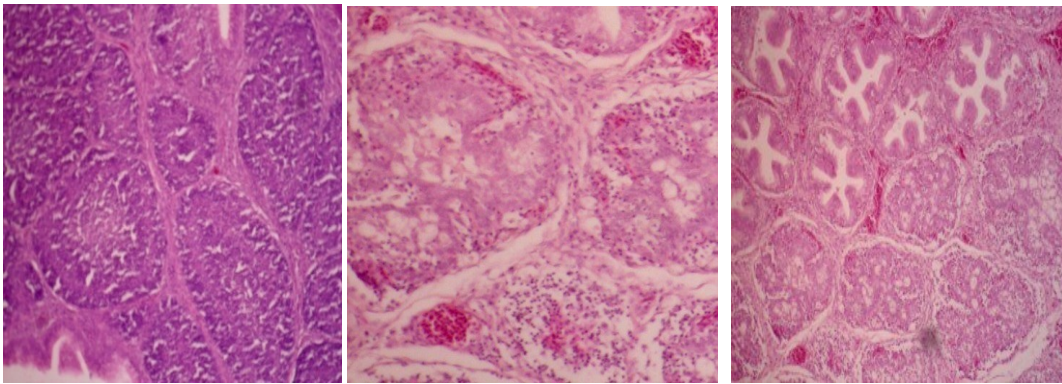
•

Промене у Фабрицијусовој бурзи четрнаест дана након вакцинације против Гамборо болести

На Слици 5 се уочава се деплеција лимфоцита и делимична атрофија фоликула, акумулација серозног ексудата у интерфоликуларном простору.

На Слици 6 присутна је деплеција лимфоцита, атрофија фоликула, серозно-хеморагични ексудат у интерфоликуларном простору.

На Слици 7 уочавају се некротичне и дегенеративне промене у фоликулима бурзе, хеморагични ексудат у интерфоликуларном простору.



Слика 5

Слика 6

Слика 7

Слика 5. Буза фабрицијус бројлера огледне групе О1. (Х&Е х40)

Слика 6. Буза фабрицијус бројлера огледне групе О2. (Х&Е х40)

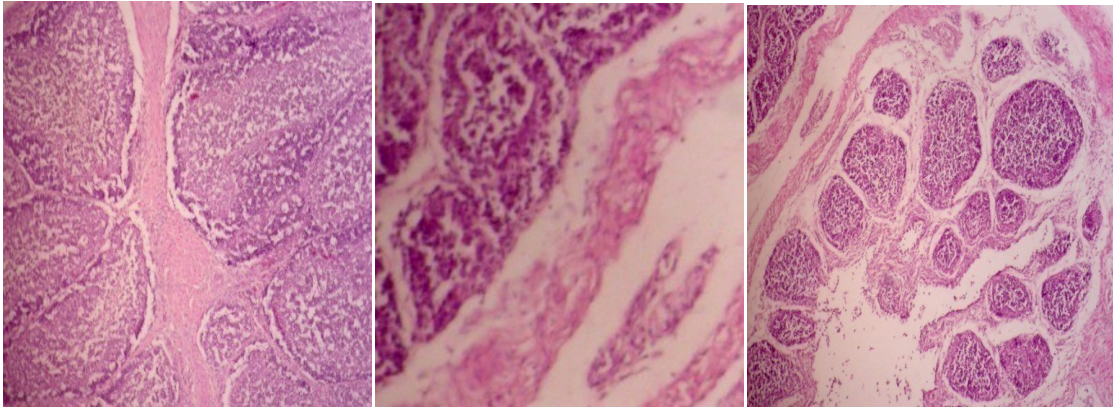
Слика 7. Буза фабрицијус бројлера огледне групе О3. (Х&Ех20)

- **Промене у Фабрицијусовој бурзи двадесетједан након вакцинације против Гамборо болести**

На слици 8 у централном делу лимфоидних фоликула уочава се делимична некроза лимфоцита, у интерфоликуларном простору накупљен серозни ексудат.

На Слици 9 у лимфним фоликулима присутна је лимфоидна депледија, атрофија фоликула, серозни ексудат у интерстицијуму.

На Слици 10 уочава се дегенерација бурзалних фоликула, повећан интерфоликуларни простор са цистичном дегенерацијом.



Слика 8

Слика 9

Слика 10

Слика 8. Буза фабрицијус бројлера огледне групе О1. (Х&Е х40)

Слика 9. Буза фабрицијус бројлера огледне групе О2. (Х&Е х40)

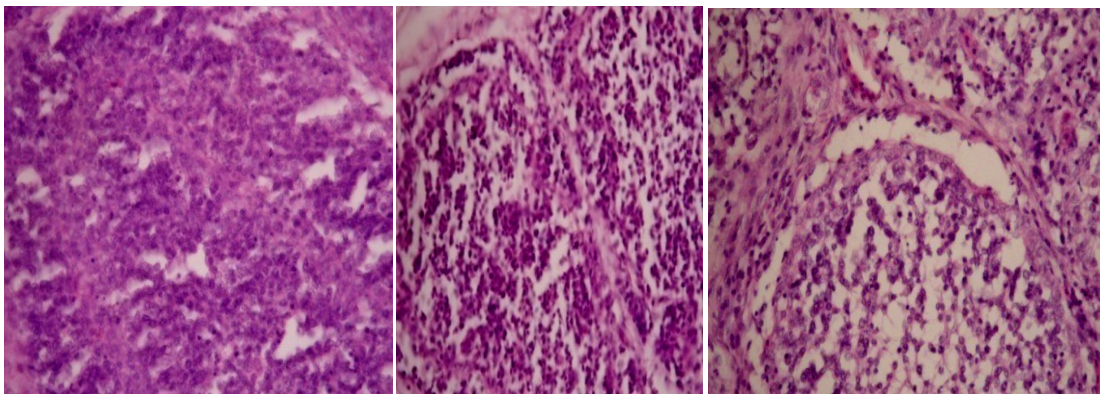
Слика 10. Буза фабрицијус бројлера огледне групе О3. (Х&Ех10)

- **Промене у Фабрицијусовој бурзи двадесетосам дана након вакцинације против Гамборо болести**

На Слици 11 уочава се репопулација лимфоцита у лимфним фоликулима.

На Слици 12 уочава се дезинтеграција ткива и некротична поља у лимфоидним фоликулима.

На Слици 13 у лимфоидним фоликулима су присутне некротичне и дегенеративне промене, цистична дегенерација.



Слика 11

Слика 12

Слика 13

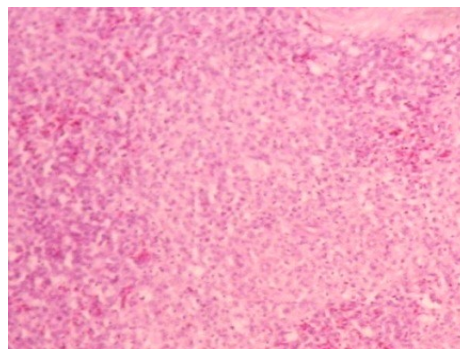
Слика 11. Буза фабрицијус бројлера огледне групе О1. (Х&Е х60)

Слика 12. Буза фабрицијус бројлера огледне групе О2. (Х&Е х40)

Слика 13. Буза фабрицијус бројлера огледне групе О3. (Х&Ех40)

5.7.2. Хистолошко испитивање слезене

Хистолошким испитивањем слезене за време трајања експеримента нисмо установили промене у структури које би указивале на дејство вакцина. Уочавају се црвена и бела пулпа.



Слика 14

Слика 14. Нормална хистолошка структура слезене. (Х&Е х

6. ДИСКУСИЈА

Многа истраживања су спроведена да би се испитали ефекти које имају вакцине против Гамборо болести, како на бурзу Фабрицијус и друге лимфоидне органе, тако и на параметре производње. Познато је да употреба вирулентних врућих вакцина може довести до озбиљних лезија у бурзи фабрицијус и на тај начин угрозити имунитет живине (ОИЕ 2001; van den Berg и сар., 2000). Лезије које се дешавају у бурзи врло често се негативно одражавају на апсорпцију хранљивих састојака хране, честа је појава секундарних инфекција, а просечан дневни прираст лошији (Sellaoui и сар., 2012).

Поједини аутори (Bolis и сар., 2003) сматрају да се телесна маса вакцинисаних и невакцинисаних бројлерских пилића не разликују значајно. Hair-Вејо и сар., (2004) налазе да нема значајне разлике у телесној маси невакцинисаних и пилића вакцинисаних четрнаестог дана интермедијарном вакцином. Sharma и сар., (2000) и Rautenschlein., (2007) извештавају да лезије у бурзи и привремена имуносупресија које узрокује вакцинација не утичу на смањење производних перформанси бројлера. Сличне резултате су добили Angani и сар., (2014) који су вакцинисали пилиће живим и мртвим вакцинама и установили да тип примењене вакцине нема утицај на телесну масу бројлера.

Boot и сар., (2001) у својим истраживањима налазе да интермедијарне-плус вакцине смањују производне перформансе живине, па самим тим и телесну масу.

6.1. Телесна маса

У истраживањима ове докторске дисертације, утицај примењених вакцина на телесну масу бројлера огледних група се уочава од двадесетпрвог дана старости, седам дана након вакцинације против Гамборо болести. Телесна маса бројлера у огледној групи О3 статистички је значајно мања у односу на просечну телесну масу бројлера О1 и О2 групе од , а од подгрупа у О3-2. До краја експеримента, бројлери контролне групе имали су статистички значајно већу просечну телесну масу у односу на бројлере основних огледних група (О1, О2 и О3) између којих су уочене сигнификантне разлике ($p < 0,01$). Статистичком анализом просечних маса у подгрупама уочено је да су сигнификантно мање ($p < 0,01$) у О1-2, О2-2 и О3-2 од осталих припадајућих подгрупа. Ове подгрупе су вакцинисане против Њукастл болести седам дана након вакцинације против Гамборо болести.

На основу добијених резултата може се закључити да примењене интермедијарне вакцине утичу на смањење телесне масе бројлера у свим огледним групама и подгрупама у односу на бројлере контролне групе. Највећи негативан утицај испољила је интермедијарна-плус вакцина 228Е, затим Гумбокал, а најмањи вакцина Д78. До сличних резултата су дошли Otsyina и сар., (2009) који извештавају да је телесна маса невакцинисаних бројлера значајно већа него код вакцинисаних са вакцином сој 228Е и Д78. Да вакцине против Гамборо болести доводе до смањења телесне масе бројлера дошли су Michell и сар., (2009), а као разлог наводе репликацију вакциналног вируса. Мању просечну телесну масу имали су бројлери огледних подгрупа који су вакцинисани против Newcastle

болести седам дана после вакцинације против Гамборо болести, затим бројлери вакцинисани после четрнаест дана и на крају бројлери вакцинисани после двадесетједан дан.

6.2. Релативна маса Фабрицијусове бурзе

Као мерило имунитета у живинарству, поред осталих параметара, често се користи маса лимфоидног органа (Heckert и сар., 2002). Повећање масе бурзе је у корелацији са повећањем телесне масе бројлера (Alloui и сар., 2005). Sellaou и и сар., (2012) закључују да бурзе у односу на телесну масу дају коефицијент корелације $R^2=0,54$ што објашњава да маса бурзе расте реално према телесној тежини. Маса фабрицијусове бурзе и одређивање бурзалног индекса је најчешћи модел за процену стопе заштите од примењених вакцина против Гамборо болести (Bolis и сар., 2003).

McMullin (2004) наводи да је нормална маса бурзе око 0,3% од телесне тежине, а да маса мања од 0,1% указује на инфекцију. Cookson и Giambonec (2004) износе да је однос бурзе и телесне масе стандардни метод за израчунавање процента заштите од IBD вируса.

Релативна маса бурзе значајно је мања код бројлера вакцинисаних интермедијарном-плус вакцином, што се тумачи пропадањем лимфоцита у бурзи са последичном атрофијом (Hair-Вејо и сар., 2000). Исти аутори (2004) налазе да је маса бурзе бројлера вакцинисаних интермедијарном IBD вакцином четрнаестог дана значајно мања у односу на бројлере контролне групе, двадесетосмог, тридесетпетог и четрдесетдругог дана старости.

Otsyina и сар., (2009) су забележили значајан пад масе бурзе након вакцинације интермедијарним-плус вакцинама.

Поједини аутори (Nielsen и сар., 1998) сматрају да интермедијарне вакцине не смањују значајно величину бурзе у односу на интермедијарне-плус вакцине код којих је смањење значајно, као и да се маса бурзе не може узимати као параметар за оцену вакцинације, али се може користити за избор вакцине (De Padiha, 2005). Moraes (2004) на основу својих испитивања изводи закључак да интермедијарне вакцине не смањују значајно масу бурзе бројлера у односу на контролну групу, док је интермедијарне-плус вакцине значајно смањују.

У испитивањима у оквиру ове докторске дисертације, кретање релативне масе фабрицијусове бурзе по данима, приказано у табели 8 и графикону 3, запажа се да се маса бурзе бројлера контролне групе повећава сразмерно повећању телесне масе. Релативна маса бурзе бројлера огледних група, које су вакцинисане против IBD (O1, O2, O3) значајно су мање ($p<0,01$) у односу на масу бурзе бројлера контролне групе К. Добијени резултати у сагласности су са резултатима Hair-Вејо и сар., (2004) који наводе да је маса бурзе мања код вакцинисаних бројлера. Најмање просечне вредности релативне масе бурзе утврђене су код бројлера огледне групе O3, вакцинисане интермедијарном-плус вакцином (228E), док су вредности група O1 и O2 приближно једнаке. Otsyina и сар. (2009) у својим истраживањима налазе да бројлери вакцинисани интермедијарном-плус вакцином (228E) показују значајно мању масу бурзе од бројлера вакцинисаних интермедијарном вакцином (Д78), као и да је регенерација бурзе бржа након апликације интермедијарних вакцина. Добијени резултати у складу су и са налазима Nishizawa и сар., (2007) да примена интермедијарне и интермедијарне-

плус вакцине четрнаестог дана старости, доводи до смањења масе бурзе у односу на масу бурзе невакцинисаних бројлера. Ali (2010) извештава да примена интермедијарне и интермедијарне-плус вакцине значајно смањују масу бурзе у односу на контролу, интермедијарна значајније.

Mayahi и Tabeeekh (2010) у својим истраживањима налазе да примењене вакцине (интермедијарне и интермедијарне-плус) доводе до смањења масе бурзе бројлера свих старосних категорија у односу на контролне групе, и то интермедијарне-плус више него интермедијарне. Ови резултати су у корелацији са добијеним резултатима, на основу којих је установљена смањена релативна маса бурзе бројлера свих огледних група у односу на контролне групе, да је просечна релативна маса бројлера огледне групе О3 значајно мања у односу на остале огледне групе. Смањење релативне масе бурзе код вакцинисаних бројлера објашњава се атрофијом овог органа због репликације вакциналног вируса у ткиву бурзе (Azhar и Munir, 2012).

6.3. Бурзални индекс

Одређивање бурзалног индекса најчешће је коришћен модел за процену степена заштите код IBD вакцинације (Bolis и сар., 2003). Бурзални индекс је стандардни метод за процену заштите од IBDV (Cookson и Giambonec, 2004), а смањење релативне масе бурзе и бурзални индекс мањи од 0,7 индикатори су атрофије овог органа (El-Mahdu и сар., 2013). Бурзални индекс је нижи код вакцинисаних него код невакцинисаних јединки (Hair-Bejo и сар., 2004).

Kulikova и сар., (2004) саопштавају да бројлерски пилићи вакцинисани интермедијарном вакцином имају већи бурзални индекс него пилићи вакцинисани интермедијарним-плус вакцинама, као и да након примене интермедијарних вакцина нема већих оштећења Фабрицијусове бурзе.

У спроведеним истраживањима, код бројлера огледне групе О1 са припадајућим подгрупата (О1-1, О1-2 и О1-3) и код бројлера огледне групе О2 са припадајућим подгрупата (О2-1, О2-2 и О2-3), нису установљене статистички значајне разлике ($p > 0,05$), мада су индексне вредности основне групе на већем нивоу у односу на подгрупе. Код бројлера огледне групе О3 са припадајућим подгрупата (О3-1, О3-2 и О3-3), установљен је значајно мањи бурзални индекс од двадесетпрвог дана старости ($0,58 \pm 0,005$) у односу на све остале дане ($p < 0,01$). Нису установљене значајне разлике бурзалног индекса бројлера између огледне групе О3 и њених подгрупа ($p > 0,05$). Hair-Bejo и сар., (2000) закључују да је бурзални индекс значајно нижи код бројлера вакцинисаних интермедијарном-плусвакцином, што потврђује добијене резултате. Abu Tabeeekh и Al-Mayah (2009) вакцинисали су бројлере четрнаестог дана старости и закључили да је бурзални индекс седам дана после вакцинације интермедијарном вакцином незнатно промењен у поређењу са бурзалним индексом бројлера контролне групе, док вакцинација интермедијарном-плус вакцином доводи до смањења бурзалног индекса која траје до двадесетпрвог дана старости. На основу добијених резултата, може се закључити да интермедијарне вакцине нису значајно утицале на промену бурзалног индекса, док је примена интермедијарне-плус вакцине довела до смањења бурзалног индекса од двадесетпрвог дана старости, а тренд смањења наставио се до четрдесетдругог дана старости.

Вакцине против IBD имају утицај и на друге лимфоидне органе осим *Bursae Fabricius* (Аууб и сар., 2003). Hair-Bejo и сар., (2004) саопштавају да је маса слезене већа код невакцинисаних бројлера у поређењу са вакцинисаним. У овом експерименту нису установљене статистички значајне разлике ($p > 0,05$) између просечних релативних маса слезене бројлера контролне групе К и бројлера огледних група О1, О2 и О3. Ezeokoli и сар., (1990) саопштавају да интермедијарне вакцине доводе до оштећења у слезени која последично доводе до промена у њеној маси, што је у супротности са добијеним резултатима, јер није установљено значајно смањење масе слезене узроковано применом вакцина.

6.4. Титар антитела на Гамборо болест

Коке родитељских јата која су вакцинисана против Гамборо болести преносе се матернална антитела на потомство која их штите првих дана живота. Alam и сар., (2002) саопштавају да је висина титра матерналних антитела првог дана старости 6294 и да постепено опада током 15-20 дана спада на 390. Сличне резултате саопштавају Paul и сар. (2005) који наводе да бројлери имају висок ниво антитела првог дана (7987) чија вредност опада постепено: петог дана износи 3787, десетог 2007, петнаестог 1003, двадесетог 364, двадесетпетог 217. Ниво матерналних антитела пада испод позитивних вредности током 15-20 дана после излегања. Утврђивање правог времена за примену IBD вакцине веома је важно код бројлерских пилића управо због перзистирајућих матерналних антитела која могу да интерферирају са вакциналним вирусом и да га неутрализују (Goutebroze и сар., 2003; Lemièrre 2003). Поједини аутори сматрају да матернална антитела могу да перзистирају до двадесетосмог дана старости и да тада треба урадити имунизацију (Ниџер, 1971; Solano и сар., 1986), док су други мишљења да је идеално време двадесетпрви дан, јер је дошло до сероконверзије матерналних антитела па у том случају, не могу да интерферирају са вакциналним вирусом (Kumar и сар., 2000; Yehudi и сар., 2000). Поједини аутори наводе да матернална антитела могу да заштите потомство до шесте недеље старости (Кнежевић и сар., 1987). Вакцинација бројлера код којих је присутан висок ниво матерналних антитела на IBDV се не препоручује (McCarty и сар., 2005; Rautenschlein и сар., 2005), јер матернална антитела могу чак у потпуности да неутралишу вакцинални вирус (Tsukamoto и сар., 1995; Alamisar., 2002; Hair-Bejo и сар., 2004; Moraesisar., 2005).

Ahmed и Akter (2003) су установили да бројлерске пилиће са матерналним имунитетом не треба вакцинисати пре четрнаестог дана старости јер ће вакцинални вирус бити неутралисан, а Paul и сар., (2005) закључују да време прве вакцинације зависи од висине матерналних антитела и требало би да буде око четрнаестог дана.

Поред утврђивања правог времена за имунизацију, важно је применити и одговарајућу врсту вакцине. Kulikova и сар., (2004) извештавају да интермедијарне вакцине индукују нижу висину титра антитела у односу на интермедијарне-плус.

У овом експерименту установљено је присуство матерналних антитела првог дана експеримента код бројлера контролне и свих огледних група, а притом

нису утврђене статистички значајне разлике, иако је титар антитела био највећи код бројлера контролне групе К и износио је $7791 \pm 834,30$ ($p > 0,05$).

Седмог дана експеримента нису установљене значајне разлике ($p > 0,05$) у титру антитела код бројлера огледних група, мада је овога пута титар антитела био највећи код бројлера огледне групе О3 ($3144 \pm 610,20$), а релативно висока вредност коефицијента варијације (29,84%) забележена је код контролне групе К.

Четрнаестог дана установљен је најнижи титар антитела код бројлера контролне групе ($800,20 \pm 88,98$) што је било статистички значајно мање ($p < 0,01$) у односу на титар антитела код бројлера О2 групе ($980,40 \pm 147,90$) и бројлера О3 групе ($1013 \pm 126,30$). Висина титра антитела између бројлера осталих огледних група није била статистички значајно различита ($p > 0,05$). Исти тренд је настављен и двадесетпрвог дана.

Тридесетпетог дана експеримента установљен је најмањи, готово безначајан титар код бројлера контролне групе ($0,30 \pm 0,48$), што је било статистички значајно мање ($p < 0,01$) у односу на титар антитела код бројлера О1 групе ($580,70 \pm 40,68$), О2 групе ($690,00 \pm 138,90$) и бројлера О3 групе ($750,00 \pm 104,10$). Просечне вредности титра антитела код бројлера огледних група, била је, такође, статистички значајно различита ($p < 0,01$). Титар антитела код бројлера О1 групе био је значајно нижи ($p < 0,01$) у односу на титар антитела код бројлера О3 групе, и значајно нижи ($p < 0,05$) у односу на титар антитела код бројлера О2 групе.

Четрдесетдругог дана експеримента није установљен титар антитела код бројлера контролне групе што је сасвим оправдано и статистички значајно мање ($p < 0,01$) у односу на титар антитела код бројлера О2 групе ($27,00 \pm 8,41$) и бројлера О3 групе ($44,00 \pm 28,82$). Висина титра антитела код бројлера између огледних група такође је била значајно различита. Титар антитела код бројлера О1 групе био је значајно нижи ($p < 0,01$) у односу на титар антитела код бројлера О3 групе.

Највиши титар антитела на Гамборо болест, у овом истраживању, добијен је код примене интермедијарне-плус вакцине 228Е, затим код интермедијарне Д78 и најнижи код вакцине Гумбокал.

Otsyina и сар., (2009) саопштавају да интермедијарна-плус вакцина 228Е изазива виши титар антитела од интермедијарне вакцине Д78, што је у сагласности са добијеним резултатима.

6.5. Имуносупресија

Вакцине против IBD могу имати имуносупресивно дејство на примену других вакцина. Khan и сар., (1998) наводе да све вакцине против Гамборо болести имају имуносупресивни ефекат на стварање титра антитела против NDV вакцинације. Вакцинални сојеви IBD доводе до оштећења бурзе и имуносупресије о чему извештава више истраживача (Allanisar.1972; Faragherisar.1974; Giambrone и сар., 1976; Muskett и сар.,1979; Lucio i Hitchner, 1980, Edwards и сар.,1982; Reese и сар., 1982; Mazariegosisar.,1990; Franciosini и Coletti, 2001).

Aliisar.,(2004) i Rautenschleinisar., (2007) извештавају о имуносупресији које изазивају конвенционалне живе вакцине против IBD. Врући сојеви вакцина изазвају лезије у фоликулима бурзе и на тај начин доводе до имуносупресије (Müller и сар., 2003).

Boudaoud i Alloui (2008) истраживали су патолошки и имунолошки ефекат интермедијарне и интермедијарне-плус вакцине код пилића вакцинисаних окуларним путем четрнаестог дана старости, као и имуносупресивни ефекат на вакцину против Newcastle болести. Њихови резултати показују да интермедијарне-плус вакцине проузрокују атрофију и тежа оштећења бурзе, као и да делују имуносупресивно у односу на интермедијарну. Према Edvars и сар., (1982) имуносупресија може трајати и до 4 недеље после вакцинације.

Zannela и сар., (1977) и Rhee и сар., (1985) сматрају да вакцинални вируси IBD не оштећују Фабрицијусову бурзу и не делују имуносупресивно, док Thangavelu и сар., (1998) налазе да се имуносупресивност појединих вакциналних сојева може кретати од високе до средње и ниске. Поједини аутори наводе да истовремена апликација живих вакцина против инфективног бронхитиса, Newcastle болести и инфективног бурзитиса нема штетно деловање уколико се дају истовремено код родитељских парова и бројлерских пилића (Cholakova и сар., 1985).

У обављеним истраживањима нису установљене статистички значајне разлике ($p > 0,05$) по данима експеримента између титра антитела на Newcastle болест код бројлера контролне групе K1 и бројлера подгрупа O1-1, O1-2, O1-3, иако је код контролне групе евидентан виши ниво титра антитела. Установљене су значајне разлике ($p < 0,01$) вредности титра антитела између бројлера групе K1 и бројлера подгрупа O3-1, O3-2, O3-3. На основу добијених резултата утврђено је да примена интермедијарних вакцина не делује имуносупресивно на имунолошки одговор према Newcastle болести, док интермедијарна-плус вакцина испољава имуносупресивно дејство. Добијени резултати у складу су са резултатима до којих су дошли Boudaoud и Alloui (2008).

Mazariegos и сар., (1990) саопштавају да су интермедијарне вакцине различите по својој вируленцији и имуносупресивности, да сој 228E доводи до јако изражених имуносупресивних ефеката, а сој D78 може да изазове средњи степен имуносупресије. У обављеним испитивањима, имуносупресија је била изражена након примене интермедијарне-плус вакцине (228E), а код примене интермедијарних вакцина (Гумбокал и D78) није утврђено такво деловање.

6.6. Хистолошка испитивања

Вакцинација против IBD је неопходна у превенцији болести. Иако вакцинални сојеви вируса доводе до оштећења бурзе, она су далеко мања од оштећења која узрокују класични вируси (Pegozo и сар., 2009). Познато је да интермедијарне и интермедијарне-плус вакцине узрокују патолошке промене у бурзи (Khalid, 2007). Вакцинација SPF пилића интермедијарним вакцинама узрокују атрофију фоликула, лимфоидну некрозу и цистичну дегенерацију бурзе. Оштећења која узрокује интермедијарна-плус вакцина су далеко тежа и обухватају: лимфоидну деплецију, повећање количине строме између фоликула и фоликуларну атрофију (Castro и сар., 2009). Знаци регенерације бурзе се уочавају четрдесетдругог дана старости углавном код бројлера вакцинисаних интермедијарном вакцином. Регенерација омогућава бурзи да настави своју изворну функцију примарног лимфоидног органа.

Ezeokoli и сар., (1990) саопштавају да се промене у бурзи након вакцинације уочавају између трећег и седмог дана. Некроза лимфоцита је

најчешћа патохистолошка лезија коју прати едем, хиперемија и некроза. Касније може да се јави регенерација појединих лимфоцита (Riddel, 1996).

Hussain и сар., (2001) налазе да живе интермедијарне вакцине доводе до различитих патолошких промена у бурзи које се крећу од благих, преко умерених, до знатних.

Rautenschlein и сар., (2003) саопштавају да вирулентни сојеви IBD вакцина индукују већа оштећења бурзе у односу на интермедијарне.

Поједини аутори сматрају да мањи интензитет микроскопских промена у Фабрицијусовој бурзи значи и мању имунолошку заштиту (Maas и сар., 2003).

Scanavini и сар., (2004) код бројлерских пилића вакцинисаних у првом, седмо и четрнаестом дану интермедијарним сојем IBD вакцине, налазе велике некрозе лимфоидних фоликула, ексудацију плазма и инфаматорних ћелија, као и повећање броја Т-лимфоцита у интерфоликуларном ткиву и кори.

Интермедијарни врло вирулентни вакцинални сојеви изазивају озбиљне лезије Фабрицијусове бурзе што доводи до деплеције 90% лимфоцита. Такве лезије изазивају и патогени сојеви вируса, што потврђују резултати Moraes и сар. (2004).

Al-Sereah (2007) код пилића вакцинисаних четрнаестог дана интермедијарном вакцином уочава тешка оштећења бурзе: хиперемију, дилатацију крвних судова и секундарну фоликуларну пролиферацију.

Abu-Tabeeh и Al-Mayah (2009) код пилића вакцинисаних четрнаестог дана старости налазе едематозне промене у Фабрицијусовој бурзи и жућкасти трансудат седам дана после вакцинације. Hair-Bejo (2004) налази сличне промене седам дана после вакцинације четрнаестодневних пилића

Поједини аутори не налазе значајне промене у бурзи након вакцинације. Davelaag и сар., (2007) саопштавају да су лезије након имунизације врло ниске и да се налазе на прихватљивој граници за вакцине, а Kim и сар., (1999) да интермедијарни и вирулентни вакцинални сојеви изазивају само делимичне некрозе бурзе. Volis и сар., (2003) извештавају да вакцинација бројлерских пилића интермедијарном-плус вакцином четрнаестог дана старости није индуковала лезије у бурзи. Moraes и сар., (2004) налазе да интермедијарне вакцине не изазивају промене у бурзи. Nishizawa и сар., (2007) извештавају да нема промена у бурзи пилића вакцинисаних интермедијарним и интермедијарном-плус вакцином, док вруће вакцине изазивају умерене микроскопске лезије, а бурза је благо атрофична. Ови налази су у супротности са нашим резултатима.

У истраживањима у овој докторској дисертацији, патохистолошке промене у Фабрицијусовој бурзи јављају се код бројлера у свим вакцинисаним огледним групама (O1, O2, O3) у поређењу са контролном, а такве промене налазе и Rautenschlein и сар., (2005) који наводе да комерцијални бројлери вакцинисани вакцинама различите вируленције (интермедијарне и интермедијарне-плус) показују различите степене оштећења бурзе.

Седам дана после вакцинације интермедијарним вакцинама, код бројлера у огледним групама O1 (Гумбокал) и O2 (Д78) уочавају се промене у бурзи: атрофија епитела, деплеција лимфоцита, ексудација серозног садржаја. Савић и

сар., (2004) у својм испитивањима налазе да Гумбокал вакцина седам дана после вакцинације у Фабрицијусовој бурзи изазива благу атрофију епитела слузнице и умерену деплецију и вакуолизацију лимфоидних фоликула, што је у сагласности са нашим налазом. Код бројлера огледне групе ОЗ, вакцинисаним интермедијарном-плус вакцином јавља се лимфоидна деплеција, атрофија фоликула, а интерфоликуларни простор испуњен је серозно-хеморагичним ексудатом.

Четрнаест дана после вакцинације у бурзама бројлера огледне групе О1 јавља се деплеција лимфоцита са делимичном атрофијом фоликула и акумулацијом серозног ексудата у интерфоликуларном простору. У бурзама бројлера огледне групе О2, присутна је деплеција лимфоцита и атрофија фоликула са серозно-хеморагичним ексудатом. Код бројлера огледне групе ОЗ, у фоликулима бурзе присутне су некротичне и дегенеративне промене фоликула и серозно-хеморагични ексудат у интерфоликуларном простору. До сличних резултата су дошли Аууиб и сар., (2003) који извештавају да се након вакцинације бројлера интермедијарним вакцинама (228Е, Д78 и Бурзина-2) у бурзи налазе хеморагије, хипертрофију фоликула и слуз, а на хистолошким препаратима уочавају се: лимфоидне некрозе, хиперплазија епитела, интерепителијалне цистичне формације, инфилтрација макрофага, атрофија бурзе, лимфоидна деплеција и фиброза. Резултати ових истраживача показују да вакцина 228Е доводи до већих патохистолошких промена у односу на друге две, што је у корелацији са нашим резултатима .

Двадесетједан дан после вакцинације у бурзи бројлера огледне групе О1, у централном делу лимфоидних фоликула јавља се делимична некроза лимфоцита, а у интерфоликуларном простору накупљен серозни ексудат. Код бројлера огледне групе О2, присутна је лимфоидна деплеција у лимфним фоликулима, атрофија фоликула и серозни ексудат у интерстицијуму. Код бројлера огледне групе ОЗ, уочљива је дегенерација и некроза бурзалних фоликула и повећање интерфоликуларног простора. И даље најтеже промене бурзе се налазе код бројлера ове групе. Alloui (2005) саопштава да пилићи вакцинисани интермедијарном-плус вакцином имају оштећења (53%) у бурзи у виду атрофије и лимфоцитне деплеције, као и фоликуларне лимфоидне некрозе и интерфоликуларне интерстицијалне фиброзе. Bouadaoud и Alloui (2008) налазе да вакцинација интермедијарним и интермедијарним-плус вакцинама не доводе до истих патогених промена. Интермедијарне-плус вакцине доводе до атрофије и тежих оштећења Фабрицијусове бурзе, што је у складу са налазима у овом експерименту.

Двадесетосам дана после вакцинације у огледној групи О1 долази до репопулације лимфоцита у лимфоидним фоликулима. Код бројлера огледне групе О2 присутна је промена структуре и некротична поља у лимфоидним фоликулима. Код бројлера огледне групе ОЗ јављају се некротичне и дегенеративне промене у лимфоидним фоликулима и цистична дегенерација.

У овим истраживањима је установљено да највећа оштећења у бурзи настају након примене интермедијарне-плус вакцине 228Е. Да интермедијарне-плус вакцине изазивају тежа оштећења у бурзи од интермедијарних саопштавају Al-Maayah и Abu Tabeeh (2012) који су испитивали патохистолошке промене у Фабрицијусовој бурзи бројлерских пилића и домаћих пилића након вакцинације четрнаестог дана старости. Sellaoui и сар., (2012) у својим истраживањима налазе

да интермедијарна-плус IBD вакцина доводи до атрофије бурзе, разарања лимфоцита, фоликуларне лимфоидне некрозе, интерфоликуларне интерстицијалне фиброзе и дегенерације епитела.

Cumpanasoiu и сар., (2010) испитивали су утицај вакцине Нобилис 228Е на Фабрицијусову бурзу и установили да седам дана после вакцинације долази до хипертрофије фоликула и хиперплазије лимфоцита у кори и сржи, као и перифоликуларне хеморагије. Четрнаестог дана после вакцинације јавља се цистична дегенерација епитела, смањење хеморагичних инфилтрата, а смањење лимфоцита је нарочито уочљиво у сржи бурзе. Двадесетпрвог дана се јавља вакоуларна цистична дегенерација епитела, масовна атрофија фоликула.

Велика бурзална оштећења са цистичним формацијама (Tsukamoto и сар.,1995), лимфоцитна деплеција са инфламацијама (Mazariegos и сар., 1990), акутна некроза (Rautenschlein и сар., 2001), фоликуларна атрофија и пролиферација интерстицијалног везивног ткива (Franciosini и Coletti, 2001) су промене које узрокују интермедијарне-плус вакцине у односу на интермедијарне.

Starcus и сар., (2011) извештавају да интермедијарне вакцине доводе до промена у ткиву Фабрицијусове бурзе које се запажају десетог, двадесетог и тридесетог дана после вакцинације које се испољавају као хипертрофија лимфних фоликула, делимична деструкција лимфоцита и плазма ћелија, накупљање серозног и хеморагичног ексудата у интерфоликуларном простору. Обнављање структуре фоликула уочљиво је након 30-40 дана после вакцинације. У овим испитивањима установљен је почетак репопулације лимфоцита код примене интермедијарне вакцине Гумбокал након двадесетосам дана после вакцинације, што је у складу са претходним резултатима.

Резултати патохистолошких испитивања слезене код бројлера вакцинисаних живим вакцинама показују да оне узрокују патолошке лезије у овом органу о чему извештавају многи аутори (Thornton и Pattinson, 1975; Ide, 1979; Thangavelu и сар., 1998; Mona, 2002; Amer и сар.,2007). Резултати добијени у овом експерименту у супротности су са налазима наведених истраживача, јер нису установљене значајне промене у слезени након примене интермедијарних вакцина, а што је у сагласности са резултатима Davelaar и сар. (2007) који саопштавају да су лезије након имунизације врло ниске.

Вакцинација бројлерских пилића против IBDV се спроводи у целом свету, па је стога неопходно примењивати је. Вакцинацију би требало спровести у зависности од висине титра пасивно пренетих матерналних антитела. Не треба чекати да титар матерналних антитела падне толико ниско да вакцинални вирус може да изазове болест, а опет ни високи титар није пожељан јер неутралише вакцинални вирус. Вакцине би требало примењивати након две недеље старости када је сазревање имунолошког система пилића скоро завршено и када је миграција Б-лимфоцита у секундарне лимфне органе завршена. Било да се примене интермедијарне или интермедијарне-плус вакцине, изазваће оштећења у бурзи. Међутим, и једне и друге доводе до активног имунолошког одговора. Интермедијарне-плус вакцине индукују веће оштећење бурзе али и већи титар антитела, интермедијарне мање оштећење бурзе и мањи титар антитела.

7. ЗАКЉУЧЦИ

На основу резултата истраживања, изведени су следећи закључци:

- Просечна телесна маса бројлера није се значајно разликовала у првих четрнаест дана експеримента код свих испитиваних група бројлера.
- Од двадесетосмог дана до краја експеримента сви бројлери вакцинисани против Гамборо болести имали су значајно мању просечну телесну масу у односу на бројлере контролне групе.
- Апликација вакцине Нобилис Гумборо 228Е испољила је негативан утицај на телесну масу бројлера чија је просечна телесна маса била значајно мања у односу на контролну и остале огледне групе.
- Релативна маса Фабрицијусове бурзе била је уједначена код бројлера до четрнаестог дана старости. После четрнаестог дана све до краја експеримента запажа се константан пад релативне масе бурзе, односно њена атрофија код свих бројлера вакцинисаних против Гамборо болести. У складу са тим, и бурзални индекс показује уједначене вредности код бројлера свих огледних група.
- Вакцинација против Гамборо и Њукастл болести није имала негативан утицај на релативну масу слезене, тако да је она била уједначена код бројлера свих испитиваних група.
- Титар матерналних антитела на Гамборо болест током прве две недеље био је уједначен код бројлера испитиваних група, а разлике се јављају четрнаестог дана код бројлера контролне групе када титар антитела опада, а на крају експеримента не може више да се детектује.
- На основу добијених вредности висине титра антитела, може се закључити да је најбољу ефикасност показала вакцина Нобилис Гумборо 228Е, затим Д78, а најмању вакцина Гумбокал.
- Имунолошки одговор после апликације вакцине против Њукастл болести указује да је вакцина Нобилис Гумборо 228Е, иако је испољила најбољи ефекат у заштити против Гамборо болести, испољила најјачи имуносуперсивни ефекат на вакцину против Њукастл болести.
- Након апликације Гумбокал вакцине у Фабрицијусовој бурзи се уочавају патохистолошке промене: атрофија епитела, деплеција лимфоцита и акумулација серозног ексудата у интерфоликуларном простору.
- Употреба вакцине Д78 доводи у Фабрицијусовој бурзи до патохистолошких промена у виду деплеције лимфоцита са делимичном атрофијом фоликула и акумулацијом серозно-хеморагичног ексудата.

- Вакцина 228Е узроковала је у Фабрицијусовој бурзи најјаче патохистолошке промене у одосу на претходне две вакцине, у бурзалним фоликулима долази до некрозе и дегенерације епитела као и накупљање серозно-хеморагичног ексудата у интерфоликуларном простору.
- Вакцина Гумбокал изазива најмање оштећење у бурзи и доводи до репопулације лимфоцита, док су оштећења бурзе код примене вакцине 228Е таквог интензитета да до краја експеримента није дошло до репопулације лимфоцита.
- Иако изазива најјачи имунолошки одговор, примена вакцине 228Е може бити проблематична због тешких оштећења бурзе која је важан имунолошки орган, односно доводи до имуносупресије имунолошког одговора пилића на примену вакцине против Њукастл болсти, али потенцијално и на друге инфективне агенсе.

8. СПИСОК ЛІТЕРАТУРЕ

1. Abu-Tabeeh M.A.S., Al-Mayah A.A.S. (2009) Morphological investigation of bursa of Fabricius of imported broilers and local chicks vaccinated with two types of IBD vaccines. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 23: 201-206.
2. Abdel-Alim G.A., Y M Saif. (2001) Pathogenicity of cell culture-derived and bursa-derived infectious bursal disease viruses in specific-pathogen-free chickens. *Avian diseases*;45:844-852
3. Akter S. H., Khan M. Z. I., Jahan M. R., Karim M. R., Islam M. R. (2006) Histomorphological study of the lymphoid tissues of broiler chickens. *Bangl. J. Vet. Med*4 (2): 87–92
4. Alam J., Rahman M.M., Sil B.K., Khan M.S.R., Giasuddin, Sarker M.S.K. (2002) Effect of maternally derived antibody on vaccination against infectious bursal disease (Gumboro) with live vaccine in broiler. *International Journal of Poultry Science* 1 (4):98-101
5. Allan W.H., Cullen G.A., Faragher J.T. (1972) Immunosuppression by Infectious Bursal Agent in Chickens Immunized Against Newcastle Disease. *Vet Rec*;90:511–512
6. Alloui M.N., Sellaoui S., Djaaba S. (2005). Morphometrical and Anatomopathological survey of the Bursa of Fabricius in Broiler Chickens. *ISAH*. (2): 52-55. Warsaw, Poland.
7. Ali A.S, Abdalla M.O., Mohammed M.E.H. (2004) Interaction between Newcastle disease and infectious bursal disease vaccines commonly used in Sudan. *International Journal of Poultry Science* 3(4):300-304,2004
8. Ali A.S. Al-Mayah, Mudhar A.S. Abu Tabeeh. (2010) Investigation on Bursa Fabricius and Body Weights in Broiler and Local Chicks Vaccinated with Two Types of Infectious Bursal Disease Vaccines. *International Journal of Poultry Science* 9 (5): 464-467
9. Al-Sereah, B. (2007). Study the effect of Revaccination against IBD on Immune Response and Histological Changes of Bursa Fabricius of Broiler Chicks. M.Sc. thesis, College of Veterinary Medicine, Basrah University, Basrah, Iraq. p: 51.
10. Ahmed Zaheer, Saeed Akhter (2003) Role of maternal antibodies in protection against infectious bursal disease in commercial broilers. *International Journal of Poultry Science* 2(4): 251-255
11. Amer M. M., El-Bayomi K. M., Kotkat M. Abd-A., Wafaa A., Shakal M. A., Sherein S. A. (2007) The efficacy of live infectious bursal disease vaccines in commercial 10 days old chicks. in press *Procc.of the 5th scientific conf. Facult. Vet. Med., BeniSuef university*. 23-33.
12. Angani M.T., Abdu P.A., Sa'idu L., Kazeem H.M. (2014) Comparison of Bursal and Body Weights in Cockerels Vaccinated with a Live and two Killed Vaccines Against Infectious Bursal Disease Virus *J. Vet. Adv.*, 2014, 4(6): 576-581
13. Ayyub R.M., Aslam A., Khan S.A., Munir M.A. (2003) Comparative immunopathological and immunosuppressive effects of three different Gumboro vaccine strains against Newcastle disease vaccination in broilers. *Pakistan Vet. J.*,23(4):2003

14. Azhar S. Akhtar, Munir M, A. (2012) Post-Vaccinal Observation of Lymphoid Organs in Broiler Chicks Inoculated with Hot and Mild Vaccinal Strains of Infectious Bursal Disease Virus. *J. Vet. Anim. Sci.* (2012), Vol. 2: 72-78
15. Baxendale W. (2002) Birnaviridae. In: *Poultry Disease* edited by Frank Jordan, Mark Pattison, Dennis Alexander i Trevor Faragher 5th edition, WB. Saunders, pp, 319-323.
16. Benton W.J., Cover M.S., Rosenberger J.K., Lake R.,S. (1967) Physicochemical properties of the infectious bursal agent (IBA). *Avian Dis*, 11(3): 438-45
17. Becht H., Muller H., Muller H.,K. (1988) Antigenic structure of the two serotypes of infectious bursal disease virus. *J.Gen.Virol.* 69, 631-640
18. Beug H., Muller H., Grieser S., Doederlein G., Graf T. (1981): Hematopoietic cells transformed in vitro by REVT avian reticuloendotheliosis virus express characteristics of very immature lymphoid cells. *Virology* 115, p. 295 – 309;
19. Bickford A.A., Kuney D.R., Zander D.V., McMartin D.A. (1985) Histologic characterization of the involuting bursa of Fabricius in single-comb white leghorn chickens. *Avian Diseases* vol.29 no.3 pp.778-797
20. Bolis D.A., Paganini F.J., Simon V.A., Zuanaze M., Scanavini N.H., Correa A., Ito N. (2003). Gumboro Disease:Evaluation Of Serological and anatomopathological response vaccinated broiler chickens challenged with very virulent virus strain. *Brazil.J.Poult.Sci.* 5(2) :137-146
21. Boudaoud A., Alloui N. (2008). Evaluation of the safety of live attenuated vaccine virus against infectious bursal disease in conventional broiler chicks. *Revue science et technoque . Office international Epizooties*, 27(3), 793-802
22. Box P. (1989). High maternal antibodies help chickens beat virulent virus *World Poultry*, 53, 17-19
23. Bublot M., Pritchard N., Le Gros E.X., Goutebroze S. (2007) Use of a vectored vaccine against infectious bursal disease of chickens in the face of high titred maternally derived antibody. *J.Comp.Path.*2007,Vol.137
24. Butcher G.D., Miles R.D., Nilipour A.H (2011) Newcastle and Infectious bronchitis vaccine reaction in commercial broilers. *Veterinary Medicine Institute of Food and Agricultural Sciences University of Florida* Pp1-4
25. Caston J. R., Martinez-Torrecedrada J. L., Maraver A., Lombardo E., Rodriguez J. F.,Casal J. I., Carrascosa J. L. (2001): C terminus of infectious bursal disease virus major capsid protein VP2 is involved in definition of the T number for capsidassembly. *Journal of Virology* 75, p. 10815 – 10828
26. Castro Maria, Elsy Saume, Carmen Diaz, Judith Garcia, Francisco Perozo (2009) Bursal restoration afterm intermediade and intermediate plus infectious bursal disease virus vaccination. *Revista Cientifica* Vol.XIX, N 2, 119-123
27. Ciriaco E., Pinera P.P., Diaz-Esnal B. and Laura R. (2003). Age-related changes in the avian primary lymphoid organs (thymus and bursa of Fabricius). *Microsc. Res. Tech.* 62, 482–487.
28. Cosgrove, A.,S. (1962) An apparently new disease of chickens – avian nephrosis. *Avian Diseases* 6: 385-389.
29. Cookson K.C.,Giambroneb J.J. (2004) The use of spleen to body weight adjunct to bursa to body weight ratio analysis to estimate ratios as an IBD virus protection. *Forum* 2004, 1794

30. Chettle N.J., Stuart J.C., Wyeth P.J. (1989) Outbreak of virulent infectious bursal disease in East Anglia. *Vet Rec* 125, pp. 271—272;
31. Cheville O.N.F. (1967) Studies on the pathogenesis of Gumboro disease in the bursa of Fabricius, spleen and thymus of the chicken. *Am J Pathol.* 1967;51:527–551
32. Charlton B.R. (1996) *Avian Disease Manual* 4th American Association of Avian Pathologists, University of Pennsylvania.
33. Chansiripornchai N., Sasipreeyajan J. (2008) Efficacy of In ovo infectious bursal disease vaccine injected in 1 day old broilers for infectious bursal disease prevention. *Proceedings , The 15th Congress of FAVA 27-30 October Thailand*
34. Chen H.Y., Zhou Q., Zhang M.F., Giambrone J.J. (1998): Sequence analysis of the VP2 hypervariable region of nine infectious bursal disease virus isolates from mainland China. *Avian Diseases* 42, p. 762 – 769;
35. Cho Y., Edgar S.A. (1969) Characterization of the infectious bursal agent. *Poult Sci. Nov;*48(6):2102–2109
36. Cholakova R. (1985) Combined poultry vaccine against infectious bronchitis, Newcastle disease and infectious bursal disease. *Veterinarnomeditsinski Nauki* 22 (9): 32-38
37. Cumpanasoiu C, Tatiana Rugea, E. Tirziu, Ileana Nichita, Monica Seres, RV. Gros (2010) Research regarding the effect of some live attenuated vaccines upon bursa of Fabricius in broilers. *Lucrari Stintifice Medicina Veterinara Vol. XLII(1), 2010 Timisoara*
38. Davenport W.D., Allen E.R., (1995) Dome epithelium and follicle-associated basal lamina pores in the avian Bursa of fabricius. *Anat Rec*, 241, 155-162.
39. Davelaar F.G., Pistra B.J., Wiltenburg N.V. (2007). Infectious bursitis vaccine. US Patent Issued on May
40. De Padilha A.P. (2005) Infectious bursal disease: Evaluation of pathogenicity of commercial vaccines from Brazil in specific pathogen free chickens. *Acta Sci. Vet.*, 33: 241-242.
41. Drury R.A.B., Wellington E.A. (1980) *Carleton's Histological Technique*, 5th edn, Oxford University Press
42. Dobos P., Hill B.J., Hallett R., Kells D.T., Becht H., Teninges D. (1979) Biophysical and biochemical characterization of five animal viruses with bisegmented double stranded RNA genomes. *J. Virol.* 32, 593-605
43. Edwards K.R., Muskett K.C., Thornton D.H. (1982) Duration of immunosuppression caused by vaccine strain of IBD virus. *Res Vet Sci.* 1982;32:79-83
44. Ekino S., Suginozawa K., Urano T., Fujii H., Matsuno K., Kotani M. (1985) The Bursa of Fabricius: a trapping site for environmental antigens. *Immunol* 55:405-10.
45. Eerola E., Veromaa T., Toivanen P. (1987) Special features in the structural organization of the avian lymphoid system. In: Toivanen P, ed. *Avian immunology: Basis and Practice*. Vol 1. 10-21
46. El-Manakhly E. M., Bekheit A. B. (1992) The pathology of broilers experimentally infected with infectious bursal disease virus and vaccination against Newcastle disease. *Egypt. J. Comp. Pathol. Clin. Pathol.* 5(1): 55-64.

47. El-mahdy Susan S., Hayam Farouk, Abd El-Wanis N.A., Hamoud M.M.(2013) Comparative studies between different commercial types of live Infectious bursal disease (IBD) vaccine in Egypt. American Journal of Research Communication www.usa-journal.com
48. Etteradossi, N. (1995) Progress in the diagnosis and prophylaxis of infectious bursal disease in poultry, p. 75-82. OIE, Paris, France.
49. Etteradossi N. (2001) Gumboro especial 2 *World Poultry Especial*, October 2001, Elsevier International, Business Information
50. Etteradossi N., Y.M., Saif.(2008) Infectious Bursal Disease. Diseases of Poultry, 12th ed. Blackwell Publishing Professional: Ames, IA, 185-208.
51. Engström B., Eriksson H., Fossum O., Jansson D. (2003) *Fjäderfäsjukdomar* .Sveriges Veterinärmedicinska Anstalt
52. Ezokoli C.D., Hyoudo E.A., Nwannenna A.I., Umoh J.U. (1990) Immunosuppression and histopathological change in the bursa of Fabricius associated with infectious bursal disease vaccination in chicken. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 13:181-188
53. Fadley A.M., Nazerian K. (1983) Pathogenesis of infectious bursal disease in chickens infected with virus at various ages. *Avian Dis.* 27, 714-723.
54. Fahey K.J., Crooks J.K., Fraser R.A. (1987). Assessment by ELISA of passively acquired protection against infectious bursal disease virus in chickens. *Aust. Vet. J.* 64, 203–207.
55. Faragher J.T., Allen W.H., Wyeth P.J. (1974) Immunosuppressive effect of infectious bursal disease agent on vaccination against Newcastle disease. *Vet.Rec.*95:385-388
56. Franciosini M.P., Coletti M. (2001). Serological, histological and immunohistochemistry studies on infectious bursal disease vaccine strain with residual pathogenicity. Immunosuppressive viral diseases in poultry, Proceedings 1999. European Commission, COST Action 839. 199-206
57. Gagić M.(1999) *In ovo* vakcinacija viševalentnim vakcinama. *Živinarstvo* 8-9, 34:9-11
58. Gardner H., Kerry K., Riddl, M., Brouwer S., Gleeso, L. (1997) Poultry virus infections in Antartic penguins, *Nature.* 387, 245.
59. Gaudry D. (1993) Experiences with very virulent IBVD. Proceedings of the 130th Annual Meeting of the American Veterinary Medical Association, Minneapolis, Minnesota pp. 156
60. Giambrone J.J., Dormitorio T.I., Brown T. (2001) Safety and efficacy of in ovo administration of infectious bursal disease viral vaccines. *Avian Diseases* 2001 45:144- 148.
61. Glick B., (1988) Bursa of fabricius: Development, growth, modulation, and endocrine function. *Crit Rev Poult Biol*, 1, 107-132.
62. Glick G., Chang T.S., Jaap R.G. (1956). The bursa of Fabricius and antibody production. *Poult. Sci.*35, 224–234.
63. Goutebroze S., Curet M., Jay M. L., Roux C.,Le Gros F. X. (2003) .Efficacy of a recombinant HVTVP2 against Gumboro disease in the presence of maternal antibodies. *Br. Poult. Sci.*, 44: 824-825.
64. Haddad E.E., Whitfill C.E., Avakian A.P., Ricks C.A., Andrews P.D., Thoma J.A., Wakenell P.S (1997) Efficacy of a novel infectious bursal disease virus immune complex vaccine in broiler chickens. *Avian Dis.* 41:882-9

65. Hair-Bejo M., Salina S., Hafiza H., Julaida S (2000). In ovo vaccination against infections bursal disease in broiler chickens. *J. Vet. Malaysia.*, 2: 63-69.
66. Hair-Bejo M., Ng, M.K. Ng, H.Y. (2004). Day old vaccination against infectious bursal disease in broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 3, 124-128.
67. Hassan M. K., Al-Natour M. Q., Ward L. A., Saif Y. M. (1996). Pathogenicity, attenuation and immunogenicity of infectious bursal disease virus. *Avian Dis.*, 40: 567-571.
68. Hassan M.K., Y.M. Saif (1996). Influence of the host system on the pathogenicity, immunogenicity, and antigenicity of infectious bursal disease virus. *Avian Dis* 40:553-61.
69. Heckert R.A., Esteves I., Russek-Cohen E., Pettit –Riley R. (2002) Effect of density and Perch Availability on the Immune Status of Broiler. *Poult.Sci.* 81:451-457
70. Hitchner S. B. (1971) Persistence of parental infectious bursal disease antibody and its effects on susceptibility of young chickens. *Avian Dis.*, 15: 894-900.
71. Hocking P. M. (2010). Developments in poultry genetic research 1960–2009. *Br. Poult. Sci.* 51 44–51 10.1080/00071668.2010.50733
72. Hoque M.M. , Omar A.R., Chong L.K, Hair-Bejo M., Aini I. (2001) Pathogenicity of SspI- positive infectious bursal disease virus and molecular characterization of the VP2 hypervariable region. *Avian Pathol.*, 30 (2001), pp. 369–380
73. Hussain Iftikhar, Atif Nisar Ahmad, Ashfaque M, Shahid Mahmood M, Masood Akhtar. (2001) Pathogenic properties of infectious bursal disease vaccines. *Pakistan Vet.J.*,21(4)
74. Ide P.R. (1979)Infectious bursal agent vaccination of chicks from infectious bursal agent vaccinated dams. *Canad. Vet. J.*, 20 (2): 35-40.
75. Ivan J., Velhner M., Ursu K., German P., Mato T., Dren C.N., Meszaros J.(2005) Delayed vaccine virus replication in chickens vaccinated subcutaneously with immune complex infectious bursal disease vaccine: quantification of vaccine virus by real-time polymerase chain reaction. *Can. J. Vet. Res.* 69:135-42, 2005.
76. Islam M. R., Zierenberg K., Muller H. (2001b): The genome segment B encoding the RNA- dependent RNA polymerase protein VP1 of very virulent infectious bursal disease virus (IBDV) is phylogenetically distinct from that of all other IBDV strains. *Archives of Virology* 146, p. 2481 – 2492;
77. Jankovic B.D., Isakovic K., Micic M., Knezevic Z.(1981) The embryonic lymphoneuro- endocrine relationship. *Clin Immunol Immunopathol* 18:108-20.
78. Jackwood D. H., Y. M.Saif.(1987) Antigenic diversity of infectious bursal disease viruses. *Avian Dis* 31:766-70.
79. Jackwood D. J., Hanes, G., Miller S. H. (1996) Infectious bursal disease viral RNA amplification using RT/PCR from bursal tissue following phenol: chloroform inactivation of the virus. *Avian Dis.*40, 457-460.
80. Jeurissen S.H., Janse E.M., Lehrbach P.R., Haddad E.E., Avakian A., Whitfill C.E. (1998): The working mechanism of an immune complex vaccine that protects chickens against infectious bursal disease. *Immunology* 95:494-500.
81. Jungmann A., Nieper H., Muller H. (2001): Apoptosis is induced by infectious bursal disease virus replication in productively infected cells as well as in

- antigen-negative cells in their vicinity. *Journal of General Virology* 82, p. 1107 – 1115;
82. Kabel S., Handberg K.J., Li Y., Kusk1 BisgaardM. (2005) Detection of vvIBDV in Vaccinated SPF Chickens, *Acta vet. scand.* 2005, 46, 219-227.
 83. Kaufer I., E. Weiss. (1976). Electron-microscope studies on the pathogenesis of infectious bursal disease after intrabursal application of the causal virus. *Avian Diseases* 20:483– 495.
 84. Khatri M., J.M. Palmquist, R.M. Cha, J.M. Sharma.(2005) Infection and activation of bursal macrophages by virulent infectious bursal disease virus *Virus Research* 113:44–50.
 85. Khan S.Z., Mushtaq A., Ayaz M., Durrani F.R., Ahmad M. (1998) Immunosuppressive effect of four different Gumboro vaccine strains on HI antibody titre against Newcastle disease vaccine in broilers. *Sarhad J.Agric.*, 14: 1-3
 86. Khan M.Y., Hashimoto Y. (1996) An immunohistochemical analysis of T-cell subsets in the chicken bursa of Fabric during postnatal stages of development. *J.Vet.Med.Sci.* 58, 1231-1234
 87. Khalid M.El Bayoumi (2007) Studies on infectious bursal disease in chicken. PH.D Thesis, Faculty of Vet.Med. Cairo Univ.
 88. Khenenou T., Melizi M., Benzaoui H. (2012) Morpho-histological study of the bursa of fabricius of broiler chickens during post-hatching age. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 72
 89. Kim I. J., K. Karaca, T. L. Pertile, S. A. Erickson, J. M. Sharma (1998): Enhanced expression of cytokine genes in spleen macrophages during acute infection with infectious bursal disease virus in chickens. *Vet Immunol Immunopathol* 61, 331-341
 90. Kim I.J., You S.K.; Kim H., Yeh H.Y., Sharma J.M. (2000) Characteristics of bursal T lymphocytes induced by infectious bursal disease virus. *J.Virol.* 74:8884-92
 91. Kim IJ., Gagić M., Sharma J.M. (1999) Recovery of antibody-producing ability and lymphocyte repopulation of bursal follicles in chickens exposed to infectious bursal disease virus. *Avian diseases* 43, 401-413
 92. King A., McLelland J.(1984) *Birds their structure and function* . Second Ed. Balliere Tindall. England
 93. Knežević N., D.Rogan, V.Matović, B.Kozlina. (1987) Persistence of maternal antibodies in the yolk and serum of chick from parents vaccinated and infected with infectious bursal disease virus. *Vet.Glasnik*, 41;767-773
 94. Kowalczyk K., Daiss J., Halpern J., Roth T.F. (1985) Quantitation of maternal - fetal IgG transport in the chicken. *Immunology* 54, 755-762
 95. Kulikova I., Jurajda V., Juranova R. (2004) Effect of IBD vaccination strains on the immune system of Leghorn chickens. *Acta Vet.Brno* 73:205-209
 96. Kumar K., Singh K.C.P., Prasad C.B. (2000) Immune responses to intermediate strain IBD vaccine at different levels of maternal antibody in broiler chickens. *Tropical Animal Health and Production* 32(6):357-360.
 97. Lasher H.N., Shane S.M. (1994) Infectious bursal disease. *World's Poult. Sci. J.* 50, 133–166.

98. Landgraf H., E. Vielitz, R. Kirsch.(1972) Occurrence of an infectious disease affecting the bursa of fabricius (Gumboro disease). *Dtsch Tierar Wochenschr.* 74:6-10.
99. Leong J. C., Brown D., Dobos P., Kibenge F., Ludert J. E., Muller H., Mundt E.,Nicholson B. (2000): Birnaviridae. In: M. H. V. Regenmortel, C. M. Fauquet, D. H.L. Bishop, E. B. Carstens, M. K. Estes, S. M. Lemon, J. Manioloﬀ, M. A. Mayo, D.J. McGeoch, C. R. Pringle, R. B. Wickner (Eds.), *Virus Taxonomy Classification and Nomenclature of Viruses*, Academic Press, p. 481 – 490, ISBN 0-12-370200-3;
100. Lemiere S., Wong S. Y., Saint-Gerand A. L., Goute- broze S., Le-Gros F. X. (2003) Compatibility of Turkey Her- pesvirus-Infectious Bursal Disease Vector Vaccine with Marek’s Disease Rispons Vaccine Injected into Day-Old Pullets. *Avian Diseases*, Vol. 55, No. 1, 2011, pp. 113- 118
101. Ley D.H., Yamamoto R.,Bickford A. A. (1983) The pathogenesis of infectious disease:serologic, histopathologic and clinical chemical observations. *Avian Dis.* 27, 1060-1085.
102. Ley D., Storm N., Bickford A.A., Yumamoto R. (1979): An infectious bursal disease virus outbreak in 14- and 15-week-old chickens. *Avian Diseases* 23, p. 235 – 240;
103. Lombardo E., Maraver A., Espinosa I., Fernandez-Arias A., Rodriguez J. F. (2000): VP5, the nonstructural polypeptide of infectious bursal disease virus, accumulates within the host plasma membrane and induces cell lysis. *Virology* 277, p. 345 – 357
104. Lucio B., Hitchner S. B.(1979) Infectious bursal disease emulsified vaccine: effect upon neutralizing-antibody levels in the dam. *Avian Diseases* 23, pp. 466 – 478;
105. Luengo Amelia, Gary Butcher, Yoshimichi Kozuka, Richard Miles (2001) Histopathology and transmission electron microscopy of the bursa of Fabricius following IBD vaccination and IBD virus challenge in chickens. *Revista Cientifica, FCV-LUZ*, Vol.XI N 6, 533-544
106. Lukert P. D., Hitchner S. B. (1984): Infectious bursal disease, u „Diseases of Poultry“ 8thedn. (Eds Hofstad M. S., Barnes H. J., Calnek B. W., Reid W. M., Yoder H. W.),Iowa State University Press, Ames, Iowa, p. 566 – 576;
107. Lukert P. D., Davis R. B. (1974): Infectious bursal disease virus: growth andcharacterisation in cell cultures. *Avian Diseases* 18, p. 243 – 250
108. Lukert P.D., Saif Y. M. (1991): „Diseases of Poultry“ 9th edn. (Eds Calnek B. W., Barnes H. J., Beard C. W., Reid W. M., Yoder H. W.), Iowa State University Press, Ames, Iowa, p. 648 – 663;
109. Lukert P.D., Saif Y.M. (1997) Infectious bursal disease. In:Calnek, B.W., Barnes, H.J., Beard, C.W., McDougald, L.R.,Saif, Y.M. (Eds.), *Diseases of Poultry*, 10th ed. Iowa State University Press, Ames, IA, pp. 721–738.
110. Lukert P.D., Mazariegos L.A. (1985) Virulence and immunosuppressive potential of intermediate vaccine strains of infectious bursal disease virus. *Journal of American Veterinary Medical Association.* 187:306-312
111. Lukert P.D., Saif Y.M. (2003) Infectious bursal disease. In: *Diseases of Poultry*, Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE. 11th Edn. Iowa State University Press, Ames IA,USA,pp:150-159

112. Lukert P.D., Saif Y.M. (2004) Infectious bursal disease. In: Calnek B.W., Barnes H.J., Beard C.W., McDoug Ald, L.R., Saif Y.M. (Eds.), Disease of Poultry, 10th ed. Iowa State University Press, Ames, USA, 161-17
113. Luna M., Rodriguez-Mendez A.J., Berumen L., Carranza M., Riesgo-Escovar J., Baudet M.L., Harvey S., Aramburo C. (2008) Immune growth hormone (GH) :Localization of GH mRNA in the bursa of Fabricius . Dev.Comp Immunol., 32: 1313-1325
114. Maw M.T., Yamaguchi T., Koga C. J., Terasaki K., Fukushi H. (2006): A Practical Tissue Sampling Method Using Ordinary Paper for Molecular Detection of Infectious Bursal Disease Virus RNA by RT-PCR, Avian Diseases 50, pp. 556-560;
115. Mazariegos L.A., Lukert P.D, Brown J.(1990).Pathogenicity and immunosuppressive properties of infectious bursal disease intermediate strains. Avian Dis. (34): 203–208
116. McCarty J.E., Brown T.P., Giambrone J.J. (2005). Delay of infectious bursal disease virus infection by *in ovo* vaccination of antibody positive chicken eggs. Journal of Applied Poultry Research, 14, 136-140.
117. McMullin P. (2004) Infectious bursal disease, IBD, Gumboro. A pocket guide health and disease. 5th Edn.
118. McFerran J. B. (1993): Infectious bursal disease, u „Virus Infections of Birds“ (Eds McFerran J. B. and McNulty M. S.), Elsevier Science Publishers, Amsterdam, p. 213– 228;
119. McFerran J.B., McNulty M.S, McKillop E.R., Conner T.J., McCracken R.M., Collins D.S., Allan G.M,. (1980) Isolation and serological studies with infectious bursal disease virus from fowl, turkey and duck: demonstration of a second serotype. Avia. Pathol. 9, 395-404
120. McNulty MS., Allan GM., McFerran JB (1979) Isolation of infectious bursal disease virus from turkey. Avian Pathology 8, 205-212
121. Mona M. A. (2002). Studies on epidemiology and vaccination for prevention of Gumboro disease in chickens. Ph.D. Thesis. Fac. Vet. Med., Cairo Univ. (Beni-Suef branch).
122. Michell B.C., Gomes A.D., Baiao N.C., Resende M., Lara L.J.S., Martins N.R.S. (2009) Effect of maternally-derived antibodies on the performance and immunity of broilers induced by *in ovo* or post-hatching immunizations with a live vaccine against infectious bursal disease. Brazilian Journal of Poultry Science ISSN1516-635X, v11, n.1, 57-63
123. Moraes H.L.S., Salle C.T.P., Padilha A.P., Nascimento V.P., Pereira R.A., Artencio J.O., Salle F.O. (2004) Infectious Bursal Disease: Evaluation of Pathogenicity of Commercial Vaccines from Brazil in Specific Pathogen Free Chickens. Brazilian Journal of Poultry Science ISSN 1516-635X Oct - Dec 2004 / v.6 / n.4 / 243 - 247
124. Moraes H.L.S., Salle C.T.P., Nascimento V.P., Salle F.O., Rocha A.C.G.T., Souza G.F., Furian, T.Q. & Artencio, J.O. (2005) Infectious bursal disease: Evaluation of maternal immunity and protection by vaccination of one-day old chicks against challenge with very virulent virus isolate. Brazilian Journal of Poultry Science, 7, 51-57
125. Moura L., Liu M., Vakharia V.N. (2007) Development and Evaluation of an *in ovo* Plasmid DNA Vaccine Against Infectious Bursal Disease Virus. International Journal of Poultry Science, 6: 784-791
126. Muskett J.C., Hopkins I.G., Edwards K.R., Thornton T.H. (1979) Comparison

- of two Infectious Bursal disease vaccine strains: efficacy and potential hazards in susceptible and maternally immune birds. *Vet.Rec.*,4: 332-334
127. Muller Herman. (1986) Replication of infectious bursal disease virus in lymphoid cells. *Arch. Virol.*87:191-203
 128. Muller H., Nitschke R. (1987): The two segments of the infectious bursal disease virus genome are circularized by a 90,000-Da protein. *Virology* 159, p. 174 – 177
 129. Müller R., I. Kaufer, M. Reinacher, E. Weiss. (1979) Immunofluorescent studies of early virus propagation after oral infection with infectious bursal disease virus (IBDV). *Zentralblatt Für Veterinärmedizin — Reihe B* 26:345–352.
 130. Muller Herman, Rafiquil Islam, Rudiger Raue. (2003) Research on infectious bursal disease – the past, the present and the future. *Veterinary Microbiology* 97 (2003) 153-165
 131. Murphy F.A., Gibbs E.P.J., Horzinek M.C., Studdert M.J.(1999) *Veterinary Virology 3rd 1999*, Academic Press
 132. Muneer M.A.; J.A. Newman I.O. Farah S.M. Goyal. (1988) Immunosuppression in animals. *Brit. Vet. J.*, 144:288- 301.
 133. Munoz R. (2003). Employed by IDEXX Costa Rica, communications, Fomada Técnica Avícola, 3October
 134. Nagy N., Magyar A., David C., Gumati M.K., Olah I (2001) Development of the follicle-associated epithelium and the secretory dendritic cell in the bursa of fabricius of the guinea fowl (*Numida meleagris*) studied by novel monoclonal antibodies. *Anat Rec*, 3, 279-292.
 135. Neighbor N.K., Newberry L.A., Bayyari G. R., Skeeles J. K., Beasley, McNew R. W. (1994) The effect of microaerosolized hydrogen peroxide on bacterial and viral poultry pathogens. *Poult. Sci.* 73, 1511-1516.
 136. Nielsen O.L., Sorensen P., Hedemand J.E., Laursen S.B., Jorgensen P.H. (1998) Inflammatory response of different chicken lines and B haplotypes to infection with infectious bursal disease virus. *Avian Pathology* 27, 181-189
 137. Nishizawa M.; Paulillo1, A. C. ;Bernardino, A. Alessi1, A.C. Sayd S.; Okada L.S.N., Doretto Junior L. (2007). Evaluation of Anatomopathological, Serological, Immunological responses and Protection in broilers vaccinated with live Infectious Bursal Disease Vaccines. *Arq. Inst. Biol. Sao Paulo*, 74 (3): 219-226.
 138. Nunoya T., Otaki Y., Tajima M., Hiraga M., Saito Y. (1992) Occurrence of acuteinfectious bursal disease with high mortality in Japan and pathogenicity of field isolates in SPF chickens. *Avian Dis.*, 36: 597-609.
 139. Olah I., Glick B. (1992) Follicle-associated epithelium and medullary epithelial tissue of the bursa of fabricius are two different compartments. *Anat Rec*, 233, 577-587.
 140. Okoye J. O. A., Uzoukwu M. (1981) An outbreak of infectious bursal disease among chickens between 16 and 20 weeks old. *Avian Dis.* 25, 1034-1038.
 141. Okwor E.C., Eze D.C., Anyanwu M.U., Okpe C.B., Eze P.C. (2013) Effects of mixed vaccinations against Newcastle disease and Infectious bursal disease on

- immune response, feed consumption and weight gain in broilers. *Journal of agriculture and veterinary science* Volume 6.Issue 3 (Nov-Dec.PP63-68
142. Ogawa M., Wakuda T., Yamaguchi T., Murata K., Setiyono A., Fukushi H., Hirai K, (1998b) Seroprevalence of infectious bursal disease virus in free-living wild birds in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 60, 1277-1279.
 143. Oppling V., Muller H., Becht H. (1991): The structural polypeptide VP3 of infectious bursal disease virus carries group- and serotype-specific epitopes. *Journal of General Virology* 72, p. 2275 – 2278;
 144. Otsyina H.R., Amakye-Anim J., Aning K.G. (2009) Protective efficacy of commercial live vaccines against very virulent infectious Bursal disease virus (vvIBDV) in Ghana. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health* Vol. 1 (2) pp. 023-027
 145. Panda A.K., M.R. Reddly (2007) Boosting the chicks immune system through early nutrition. *Poultry International*
 146. Pattison M., Allan W.H. (1974) Infection of chicks with infectious bursal disease and its effect on the carrier state with Newcastle disease virus. *Vet.Rec.* 95:65-66
 147. Paul B.K., Huque A.K.M., Kabir S.M.L., Alam J., Badhy S.C. (2005) Evaluation of vaccination programmes against Gumboro disease with persistence of maternally derived antibody in broiler chickens. *Bangl.J.Med.* 3(1): 13-16
 148. Perozo F., Villegas A.P., Fernandez R., Cruz J., Pritchard N.(2009) Efficacy of single dose recombinant herpes virus of turkey infectious bursal disease virus. (IBDV) vaccination against a variant IBDV strain. *Avian Dis.*53(4), 624-28
 149. Petkov D. I., E. G. Linnemann, D. R. Kapczynski , H. S. Sellers (2009): Identification and characterization of two distinct bursal B-cell subpopulations following infectious bursal disease virus infection of White Leghorn chickens *Avian Dis* 53, 347-355
 150. Ponvert V., Paupe J., Griscellie P. (1991)*Immunologie Fondamentale et Immunopathologie.2ème édition , Darketing édition. Paris. P. 377*
 151. Poonia B., Charan S. (2004) Infiltration by CD4+ and CD8+ lymphocytes in bursa of chickens infected with Infectious Bursal Disease Virus (IBDV): strain-specific differences. *Indian J Exp Biol.* Aug;42(8):823-9.
 152. Pitcovski J., Goldberg D., Levi B.Z., Di-Castro D., Azriel A., Krispel S., Maray T., Shaaltiel Y., (1998) Coding region of segment A sequence of a very virulent isolate of IBDV— comparison with isolates from different countries and virulence. *Avian Dis.* 42, 497–506.
 153. Rautenschlein S., H.Y. Yeh, M.K.Njenga, J.M. Sharma. (2002) Role of intrabursal T cells in infectious bursal disease virus (IBDV) infection: T cells promote viral clearance but delay follicular recovery. *Archives of Virology* 147:285–304.
 154. Rautenschlein S, H.Y. Yeh, Sharma J.M. (2003) Comparative immunopathogenesis of mild, intermediate and virulent strains of classic infectious bursal disease virus. *Avian Disease* 47:66-78
 155. Rautenschlein S., Kraemer C., Vanmarcke J., Montiel E. (2005). Protective efficacy of intermediate and intermediate plus infectious bursal disease virus (IBDV) vaccines against very virulent IBDV in commercial broilers. *AvianDiseases*, 49, 231-237.

156. Rautenschlein S., Haase C. (2005) Differences in the immunopathogenesis of infectious bursal disease virus (IBDV) following in ovo and post-hatch vaccination of chickens. *Vet Immunol Immunopathol.* Jun 15; 106 (1-2):139-50.
157. Rautenschlein S., Kraemer C., Montiel E., Vanmarcke J., Haase C. (2007). Bilateral effects of vaccinations against infectious bursal disease and Newcastle disease investigated in specific-pathogen-free layer type and commercial broiler-type chicken. *Avian Diseases*, 51, 14-20.
158. Reece R.L., Gould J.A., Hindmarsh M. (1982) Studies on a vaccine against Infectious Bursal disease. *Aust.Vet.J.*, 59: 27-29
159. Repp H., Nieper H., Draheim H. J., Koschinski A., Muller H., Dreyer F. (1998): Infectious bursal disease virus infection changes the potassium current properties of chicken embryo fibroblasts. *Virology* 246, p. 362 – 369;
160. Rhee Y.O., Kwon J.H., Choi C.O., Kim J.H., Namgoong S. (1985) Safety and immunogenicity of a live Infectious Bursal disease vaccine in breeding hens. *Vet. Bull.*, 55(3): 1451
161. Ridell C. (1996) *Avian Histopathology* (1996) 2nd, American Association of Avian Pathologists, University of Pennsylvania
162. Rodriguez-Mendez A.J., Luna –Akosta J.L., Carranza M., Harvey S., Aramburo C., Luna M. (2010) Growth hormone expression in stromal and non-stromal cells in the bursa Fabricius during bursal development and involution: Causal relationships. *Gen.Comp. Endocrinol*, 167: 297-307
163. Rodenberger J.K., Sharma J.M., Balzer S., Nordgren R., Naqi S. (1994) Flow cytometric analysis of B-cell and T-cell subpopulations in specific pathogen-free chickens infected with infectious bursal disease virus. *Avian Dis.* 38:16-21
164. Rosenberger J.K., Gelb J.J.R. (1978). Responses to several avian respiratory viruses as affected by infectious bursal disease virus. *Avian Diseases*, 32, 209-214.
165. Rosenberg J. K., Cloud S. S., Metz A. (1987): Use of infectious bursal disease virus variant vaccines in broilers and broiler breeders. *Proceedings of the 36th Western Poultry Disease Conference*, Davis, California p. 105 – 109;
166. Rubin E., M. D. Cooper, F. W. Kraus. (1971) Kinetics of cellular proliferation in the bursa of Fabricius. *Bacteriological Proceedings* p. 67. (abstract)
167. Sainsbury D.(1992) *Poultry Health and Management 1992* 3rd, Blackwell Scientific Publications
168. Sapats S.I., Ignjatovic J. (2000): Antigenic and sequence heterogeneity of infectious bursal disease virus strains isolated in Australia. *Archives of Virology* 145, p. 773 –785;
169. Savić G., Ćurčić S., Savić V. (2004) Safety evaluation of Gumbokal IM Forte SPF live intermediate vaccine against infectious bursal disease. *Praxis veterinaria* 52 (1-2)135-140
170. Scanavini Neto H., Ito N.M.K., Miyaji C.I., Lima E. de. A., Okabayashi S., Correa A.R.A., Eleuterio G.C., Zuanaze M.A. (2004). Infectious Bursal Disease Virus: case report and experimental studies in vaccinated and unvaccinated SPF chickens and commercial broiler chicks. *Brazil. J. of Poult.Sci.* 6 (1): 41-54
171. Sharma J.M., J.E Dohms, A.L Metz. (1989) Comparative pathogenesis of serotype I and variant serotype 1 isolates of infectious bursal disease

- virus and their effect on humoral and cellular immune competence of specific pathogen-free chickens. *Avian Diseases* 33:112-124.
172. Sharma Jagdev M, In-Jeong Kim, Silke Rautenschlein, Hung-Yueh Yeh. (2000) Infectious bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. *Development and Comparative Immunology* 24. 223-235
 173. Sharma J.M., Zhang Y., Jensen D., Rautenschlein S., Yah H.Y. (2002) Field trial in commercial broilers with a multivalent in ovo vaccine comprising a mixture of live viral vaccines against Marek's disease, infectious bursal disease, Newcastle, and fowl pox. *Avian Dis.* 46:613-22.
 174. Sellaoui S., Nadir Alloui, Mehenaoui S. (2012) Evaluation of size and lesion scores of bursa cloacae in broiler flock in Algeria. *Poultry Industry*
 175. Sellaoui S., Alloui N., Mehenaoui S., Djaaba S. (2012) Evaluation of Immune Status of the Chicken using Morphometry and Histology of the Bursa of Fabricius. *J Vet Adv* 20, 2(8): 440-443
 176. Simić V., Krečov M. (1977a): Gamboro oboljenje živine. *Peradarstvo* br. 3, str. 3
 177. Singh K., Dhawedkar P., Jaiswal R. (1994) Comparative studies on bursa and body weight ratios of chicks, post infection with a field and vaccine strains of IBDV. *Indian J.Vet.Res.*,3: 5-9
 178. Solano W., Giambrone J.J., Williams J.C., Lauerman L.H., Panangala V.S., Garces C.(1986) Effect of maternal antibody on timing of initial vaccination of young White Leghorn chickens against infectious bursal disease virus. *Avian Diseases* 30(4):648-65
 179. Sratcius Nicolae, Natalia Osadci, Ion Scutaru, Tudor Spataru, Rita Golban, Ruslan Antoci (2011) The histological changes in Bursa of fabricius on chickens vaccinated with intermediate and hot strains of vaccines against gambaro disease. *Bulletin UASVM, Veterinary Medicine* 68 (1) piSSN 1843-5270
 180. Tanimura N, Tsukamoto K., Nakamura K., Narita M. Yuasa N. (1994). Pathological changes in specific-pathogen-free chickens experimentally inoculated with European and Japanese highly virulent strains of infectious ursal disease virus. In: *Proceedings of the International Symposium on infecious ursal disease and chicken infectious anaemia*. World Veterinary Poultry Association. Germany, 143-152.
 181. Tanimura N., Sharma J.M. (1997) Appearance of T cells in the bursa of Fabricius and cecal tonsils during the acute phase of infectious bursal disease virus infection in chickens. *Avian Diseases* 41:638–645.
 182. Tanimura N., Sharma, J.M. (1998) In-situ apoptosis in chickens infected with infectious bursal disease virus. *J. Comp. Pathol.* 118, 15 –27.
 183. Taylor R.C., Cullen S.P., Martin S.J. (2008) Apoptosis: Controlled demolition at the cellular level. *Nat.Rev.Mol.CellnBiol.*9: 231-241
 184. Thangavelu A.,Dhinakarraj G., Elankumaran S., Manohar B.M., Koteeswaran A., Venugopalan A.T. (1998) Pathogenicity and immunosuppressive properties of Infectious Bursal disease virus field isolates and commercial vaccines in India. *Trop. Anim.Prod.*, 30: 167-176

185. Thornton D. H., Pattison M. (1975) Comparison of vaccines against infectious bursal disease virus. *J. Comp. Pathol.*, 85: 597-610.
186. Tsukamoto K., Tanimura N., Kakita S., Ota K., Mase M., Imai K., Hihara, H. (1995). Efficacy of three live vaccines against highly virulent infectious bursal disease virus in chickens with or without maternal antibodies. *Avian Diseases*, 39, 218-229.
187. Uddin S.N., Hossain S.P. (2006) Effect of infectious bursal disease virus on in vitro propagation of chicken embryo fibroblast cells. *AJAVA* 1:55-59
188. Uddin Mohammad Mejbah Mohammad Saiful Islam, Joyita Basu, Md. Zahirul Islam Khan (2012) Distribution and Quantification of Lymphocytes in the Major Lymphoid Organs of Naturally Gumboro Infected Broilers. *Int. J. Morphol.*, 30(4):1585-1589.
189. Van den Berg T.P., Gonze M., Meulemans G.(1991) Acute infectious bursal disease in poultry: isolation and characterization of a highly virulent strain. *Avian Pathol.* 20:133– 143
190. Van den Berg, T.P. (2000). Acute infectious bursal disease in poultry: a review. *Avian Pathology*, 29, 175–194.
191. Vasconcelos A.C., K.M. Lam. (1994) Apoptosis induced by infectious bursal disease virus. *Journal of General Virology* 75:1803–1806.
192. Velhner Mirjana, Kosovac A., Vasić Nada, Lukić Jovanka (1976): Gumboro bolest u Vojvodini – izolacija uzročnika i dokaz njegovog prisustva agar gel difuzionom metodom. *Peradarski – živinarski dani, Oteševo, Zbornik radova, str. 75 – 79.*
193. Velhner Mirjana, Kosovac A., Babić M. (1980): Gumboro bolest: Neke karakteristike pojavljivanja u Vojvodini i uticaj infekcije uzročnikom na postvaccinalni imunitet pilića protiv kokošije kuge. *Peradarstvo br. 5, str. 58 – 62;*
194. Velhner M., Petrović T., Savić-Jevđenić S., Lazić S. (2002) Vrste i mehanizmi delovanja virusnih vakcina. *Veterinarski glasnik* 56:143-152.
195. Velhner Maja, Lazić S., Petrović T., Mitevski D., Aleksić-Kovačević Sanja (2001) Protection of chickens with maternally derived antibodies after challenge with very virulent infectious bursal disease virus, *Acta Veterinaria (Beograd)*, Vol. 51., No. 4, 219 – 226;
196. Verma D., Malik M.R., Parmar M.I., Taluja J.S. (1999) Morphogenesis of Bursa of Fabricius in chick. *The Indian Journal of Animal Sciences*, Vol 69. No 5
197. Vindevogel H., Gouffaux M., Meulemans G., Duchatal J.P., Halen P.(1976) Maladie de gumboro distribution et persistence du virus chez le poussin inoculé. *Etudes sur la transmission de la maladie. Avian Pathol.* 5, 31-38.
198. Zaheer Ahmed, Saeed Akhter (2003) Role of antibodies in protection against infectious bursal disease in commercial broilers. *International Journal of Science* 2(4):251-255
199. Zanella A., Pell A., Castelli G., Mambelli N. (1977) Lack of effects of vaccination with an attenuated Infectious Bursal disease virus on the immune response in Newcastle disease vaccination. *Avian Pathol.*, 6: 1-8
200. Zierenberg K., Rauer.H. Muller (2001): Rapid identification of “very virulent” strains of infectious bursal disease virus by reverse transcription-polymerase chain reaction combined with restriction enzyme analysis. *Avian Pathol.* 30, 55-62.

201. Yao K., V.N. Vakharia. (2001) Induction of apoptosis in vitro by the 17-kda nonstructural protein of infectious bursal disease virus: possible role in viral pathogenesis. *Journal of Virology* 285:50–58.
202. Yehuda H., Goldway M., Gutter B., Michael, A., Godfried Y., Levi B.Z., Pitcovski J. (2000) Transfer of antibodies elicited by baculovirus derived VP2 of very virulent infectious bursal disease virus strains to progeny of commercial breeder chickens. *Avian Pathol.* 29, 13–19.
203. Yamaguchi T., Setiyono A., Kobayashi M., Takigami S., Fukushi H., Hirai K. (2000) Infectious bursal disease live vaccines: Changes in the virus population during serial passage in chickens and chicken embryo fibroblast cells. *Avian Diseases* 44, pp. 284-290
204. Wang D., Zhou X., She R., Xiong J., Sun Q., Peng K., Liu L., Liu Y. (2009b) Impaired intestinal mucosal immunity in specific-pathogen-free chickens after infection with very virulent infectious bursal disease virus. *Poultry science* 88, 1623-1628
205. Wilcox G. E., Flower R. L., Baxendale W., Smith V. W. (1983) Infectious Bursal Disease in Western Australia, *Aus. Vet. J.* 60, 86-87.
206. Winterfield R.W., Dhillon A.S., Thacker H.L., Alby L.J. (1980) Immune-Response of White Leghorn Chicks from Vaccination with Different Strains of Infectious Bursal Disease Virus and in the Presence of Maternal Antibodies. *Avian Dis.* 24:179–188.
207. Winterfield R.W., A.M Fadly, A. Bickford. (1972) Infectivity and distribution of infectious bursal disease virus in the chicken. Persistence of the virus and lesions. *Avian Diseases* 16:622-632.
208. Winterfield R. W., S. B. Hitchner, G. S. Appleton, A. S. Cosgrove. (1962) Avian nephrosis, nephritis, and Gumboro disease. *L & M News Views* 3:103.