University of Mosul

College of Veterinary Medicine

Evaluation of Local and Systemic Antibody Responses to Bivalent Attenuated Vaccines Targeting Newcastle Disease and Infectious Bronchitis in Broiler Chickens

Mohammed Sayfadin Salih Haji

MSc. / Thesis

Veterinary Medicine / Poultry Diseases

Supervised by

Professor

Dr. Fanar Ablahad Isihak

2025 A.D. **1447 A.H.**

Abstract

This study aims to assess the efficacy of commercial bivalent attenuated vaccines targeting Newcastle Disease Virus (NDV) and Infectious Bronchitis Virus (IBV) in Iraqi poultry farms by evaluating both systemic (IgG) and mucosal antibody responses, analyzing immune homogeneity across vaccinated groups, and employing immunohistochemistry to detect MUC5A and MUC5B expression in tracheal tissues. Additionally, it investigates the correlation between antibody titers measured by ELISA and hemagglutination inhibition (HI) tests, while monitoring key body performance indicators to provide a comprehensive understanding of vaccine impact.

The study involved seven groups of chicks, each receiving different formulations of bivalent live attenuated vaccines targeting Newcastle Disease Virus (NDV) and Infectious Bronchitis Virus (IBV).

Two hundred and ten, (Ross 308) broiler chicks were brought from private hatchery to conduct this study. They were divided into 7 groups; each group consisted 30 chicks. The chicks of group 1 received (Nobilis MSD® vaccine). G2 vaccinated with (Hipraviar® vaccine). G3 administered with (Vaxxinova® vaccine). G4 inoculated (Komipharm® vaccine). G5 vaccinated with (KAVAC® vaccine). G6 vaccinated by (Dalguban® vaccine). Group 7 (negative control). The groups G1 to G6 were vaccinated by ocular route at 1 and 14 day of age with aforementioned vaccines. Two ml of blood from four samples obtained from each group in the chicks' wing veins was collected at 1, 7, 14, 21, 28, and 35 days of ages to obtain serum for ELISA and HI, while tracheal tissue was collected for detection of IgA, histochemical and immunohistochemical staining and examination. The high titer of Abs against NDV were observed mainly in G5 (5907.2 ± 385.2) at 7 days, G2 (1930.5 ± 353.3) at 14 days, and G1

(2097.7 ± 843.1) (5591.2 ± 2485.3) (4180.5 ± 1659.6) at days 21, 28, and 35 when compared to other groups at different ages. IBV ELISA findings showed G1 (4705.5 ± 2547.5) had a greater titer of Abs at day 21 compared to G4 (878.5 ± 309.6) and G6 (982.7 ± 282.1), whereas G2 (3159.7 ± 308.5) explained no significant, high titer of Abs at day 28.

The HI results for ND indicate a bimodal and fluctuating titer of Abs, (log2) G5 gave (6.66 ± 1.52) at 7 days, G1 (4.66 ± 0.33) and G2 (3.66 ± 0.33) at 21 days and G1 (6 ± 0.57) at 35 days. These groups showed that they have a much higher Abs titer compared to other groups at different age of experiment. The IBV HI results indicate also a bimodal and fluctuating titer of Abs at age 7 and 35 days G2 (5.33 ± 0.33) (5.66 ± 0.33) and G1 (7 ± 0.57) at 21 days have a higher Abs titer compared to other groups at different age of experiment.

IgA Abs titer against IBV by ELISA test showed that G1 gave (0.41 ± 0.008) at 5 days and G6 (0.43 ± 0.012) at 21 days which have a higher Abs titer than other groups.

We calculated the chicks' average body weight (gm) weekly at 7, 14, 21, 28, and 35 days of age. At age 7 days G7 had (197.2 ± 3.9) with significant differences compared to other groups. While at age 14, G6 had (501.7 ± 11.7) with significant differences compared to other groups. G5 (1689.7 ± 60.1) also had significant differences ($P \leq 0.05$) in contrast with various groups at age 28 days, while at ages 21 and 35 days no significant differences were shown between groups.

Weekly measurements of food conversion ratio (FCR) were made in order to identify any differences between the experiment's groups. There was a significant difference between groups at any age of FCR measurements, G2 (1.48 ± 0.1) at 35 days showed the greatest value compared to other groups.

Assessment of tracheal mucin pictures found that MUC5AC and MUC5B immunostaining were significant in G5 after 7 and 21 days. MUC5AC immunostaining was high in more than half of the epithelial cells in G2.

In conclusion, the evaluation of various bivalent ND-IB vaccines revealed notable differences in antibody responses across groups. Group 1 (G1) consistently exhibited higher antibody titters against Newcastle Disease Virus (NDV) at days 21, 28, and 35, as confirmed by both ELISA and HI tests. For Infectious Bronchitis Virus (IBV), G1 showed stronger ELISA titters on day 21, while Group 2 (G2) demonstrated peak responses on days 28 (ELISA) and 7 and 35 (HI). Additionally, mucosal IgA levels were elevated in G1 on day 5 and in Group 6 (G6) on day 21. Histological analysis revealed pronounced MUC5AC and MUC5B expression in G5 tracheal tissues at days 7 and 21, suggesting mucosal activation in response to vaccination.

جامعة الموصل

كلية الطب البيطري

تقييم الاستجابة المناعية الموضعية والجهازية للأجسام المضادة للقاحات المضعفة الثنائية المستهدفة لأمراض النيوكاسل والتهاب الشعب الهوائية المعدي في دجاج التسمين

محمد سيف الدين صالح حجى

رسالة ماجستير

الطب البيطري / أمراض الدواجن

بإشراف

الأستاذ الدكتور

فنار ابلحد اسحق

1447 هـ

2025 م

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم فعالية اللقاحات التجارية الثنائية المضعفة والتي تستهدف فيروس مرض النيوكاسل (NDV) وفيروس التهاب الشعب الهوائية المعدي (IBV) والتي تصيب حقول الدواجن العراقية من خلال تقييم كل من الاستجابات المناعية الجهازية (IgG) والمخاطية (IgA) للأجسام المضادة، وتحليل التجانس المناعي للمجموعات المحصنة، واستخدام الكيمياء النسجية المناعية للكشف عن تعبير MUC5A و MUC5B في أنسجة القصبة الهوائية. بالإضافة إلى ذلك دراسة العلاقة بين معيار الأجسام المضادة المقاسة بواسطة ELISA واختبارات تثبيط التلازن الدموي(HI) ، مع مراقبة مؤشرات الأداء الانتاجي الرئيسة للجسم لتوفير فهم شامل لتأثيرهذه اللقاحات.

شملت الدراسة سبع مجموعات من الافراخ ، كل منها تم تحصينها بنوع معين من هذه اللقاحات الحية المضعفة الثنائية والمستهدفة لفيروس مرض النيوكاسل (NDV) وفيروس التهاب الشعب الهوائية المعدي(IBV). حيث تم استخدام 210 من افراخ الفروج اللاحم نوع (Ross308) وذلك بعد الحصول عليها من احد المفاقس الخاصة. قسمت الافراخ الى 7 مجاميع وفي كل مجموعة 30 فرخ وكالاتي: افراخ المجموعة الاولى حصنت بلقاح (Nobilis MSD® vaccine) ، افراخ المجموعة الثانية تم تحصينها بلقاح (Hipraviar® vaccine) ، افراخ المجموعة الثالثة تم تحصينها بلقاح (Vaxxinova® vaccine) ، اما افراخ المجموعة الرابعة فقد تم تحصينها بلقاح (Komipharm® vaccine) ، في حين تلقت افراخ المجموعة الخامسة لقاح (KAVAC® vaccine) ، واخيرا تم تحصين افراخ المجموعة السادسة بلقاح (Dalguban® vaccine) ، في حين تركت المجموعة السابعة بدون تحصين وكانت تمثل مجموعة السيطرة السالبة. تم تحصين الافراخ في المجاميع من 1 الى 6 باللقاحات انفة الذكر بطريقة التقطير بالعين بعمر 1 و14 يوم. تم سحب 2 مل من الدم من الوريد الجناحي وبواقع 4 عينات من كل مجموعة ولكل فئة عمرية وبالاعمار 1و7و14و21و28و 35 يوم وذلك للحصول على المصل لاستخدامه في اختباري الاليزا وتثبيط التلازن الدوموي ، بينما تم جمع نسيج القصبة الهوائية للتحري عن الاضداد الموضعية IgA فيها وكذلك لغرض فحص الكيمياء المناعية النسجية. اوضحت النتائج بأن اعلى معيار للاجسام المضادة لمرض النيوكاسل كانت في المجموعة الخامسة (385.2 ± 5907.2) عند عمر 7 ايام والمجموعة الثانية ± 1930.5) (353.3 بعمر 14 يوم والمجوعة الاولى (2485.3 ± 5591.2) (843.1 ± 2097.7) (1659.6 ± 4180.5) بعمر 21 و28 و35 يوم عند مقارنتها مع باقي المجاميع وبالاعمار

المختلفة. لقد اوضحت نتائج اختبار الاليزا عند التحري عن الاجسام المضادة لمرض التهاب الشعب الهوائية المعدي بأن المجموعة الاولى اعطت اعلى معيار لهذه الاجسام (4705.5 ± 2547.5) عند عمر 21 يوم مقارنة بالمجموعة الرابعة والسادسة ، بينما اعطت المجموعة الثانية معيار عالي ومعنوي للاجسام المضادة (308.5 ± 3159.7) عند عمر 28 يوم بالمقارنة مع المجاميع الاخرى.

لقد كان معيار الاجسام المضادة الموضعية IgA لمرض التهاب الشعب الهوائية المعدي بواسطة اختبار الاليزا في المجموعة الاولى (0.008 ± 0.41) عند عمر 5 ايام وفي المجموعة السادسة (0.012 ± 0.43) عند عمر 21 يوم مقارنة مع مجاميع التجربة الاخرى، لقد اظهرت نتائج اختبار تثبيط التلازن الدموي لمرض النيوكاسل وجود تباين وتفاوت في معيار الاجسام المضادة حيث اعطت المجموعة الخامسة معيار بلغ (1.52 ± 6.66) عند عمر 7 ايام ، اما المجموعة الاولى والثانية فقد كان فيها المعيار (0.33 ± 4.66) و(0.33 ± 3.66) على التوالي عند عمر 21 يوم ، لقد بلغ معيار الاضداد في المجموعة الاولى (0.57 ± 6) عند عمر 35 يوم والذي كان يمثل اعلى معيار مقارنة مع المجاميع الاخرى، اما بالنسبة لاختبار تثبيط التلازن الدموي لمرض التهاب الشعب الهوائية المعدي فقد كان المعيار ايضا متباين ومتذبذب ، ففي المجموعة الثانية وبلغ (0.33 ± 5.66) (0.33 ± 5.33) عند عمر 7 و35 يوم ، اما المجموعة الاولى فقد اعطت اعلى معيار للاضداد بلغ (0.57 ± 7) عند عمر 21 يوم بالمقارنة مع مجاميع التجربة وباعمار مختلفة.

عند حساب معدل الاوزان الاسبوعي للافراخ بعمر 7و14و21و28و35 يوم ، فقد اعطت المجموعة السابعة معدل وزن بلغ (3.9 ± 197.2) غم عند عمر 7 ايام وبفارق معنوي ملحوظ عن باقي المجاميع ، اما بعمر 14 يوم فقد اعطت المجموعة السادسة معدل معنوي للوزن وبلغ (11.7 ± 501.7) غم ، وفي المجموعة الخامسة فقد كان معدل الاوزان فيها (1689.7 ± 60.1) غم وباختلاف معنوي ($P \leq 0.05$) عن المجاميع الاخرى عند عمر 28 يوم ، بينما لم يلاحظ اي اختلاف معنوي في معدل الاوزان بين المجاميع عند عمر 35 يوم. وعند حساب معامل التحويل الغذائي للتقصي عن الاختلافات في هذا المعامل بين مجاميع التجربة ، فقد كان هناك اختلافات معنوية بين المجاميع وباعمار مختلفة حيث اعطت المجموعة الثانية اعلى قيمة لهذا المعامل وبلغت (0.1 ± 1.48) عند عمر 35 يوم بالمقارنة مع مجاميع التجربة، وفي التقييم النسجي لصورة مخاط القصبة الهوائية فقد وجد بان المؤشرين MUC5AC وMUC5B اعطيا نتائج معنوية وموجبة للتصبيغ المناعي في المجموعة 5 (G5) في اليومين 7 و21، ، وكان

المؤشر MUC5AC قد اعطى نتائج عالية للتصبيغ المناعي في اكثر من نصف الخلايا الظهارية للمجموعة الثانية.

نستنتج من هذه الدراسة بأن تقييمات اللقاحات الثنائية والمضعفة لكل منNDV و IB كشفت عن اختلافات ملحوظة في استجابات الأجسام المضادة بين المجموعات، فالمجموعة 1 (G1)أظهرت معيار عالي وثابت للاجسام المضادة لفيروس مرض نيوكاسل (NDV) في الأيام 21 و28 و35، كما أكدته اختبارات ELISA وHI ، وبالنسبة لفيروس التهاب الشعب الهوائية المعدي(IBV) فقد أظهرت المجموعة 1 (G1) معيار اعلى للاجسام المضادة بواسطة الاليزا، بينما أظهرت المجموعة 2 (G2) اعلى استجابة مناعية في الأيام 28 (ELISA) و7 و35 (HI)، بالإضافة إلى ذلك فقد كانت مستويات IgA المخاطية مرتفعة في المجموعة 1 (G1) في اليوم الخامس وفي المجموعة 6 (G6) في اليوم الحادي والعشرين. أظهرت التحليلات النسجية تعبيرًا ملحوظًا عن MUC5AC و MUC5B في أنسجة القصبة الهوائية في المجموعة 5 (G5) في اليومين 7 و21، مما يشير إلى تنشيط الغشاء المخاطي استجابةً لعملية التحصين.