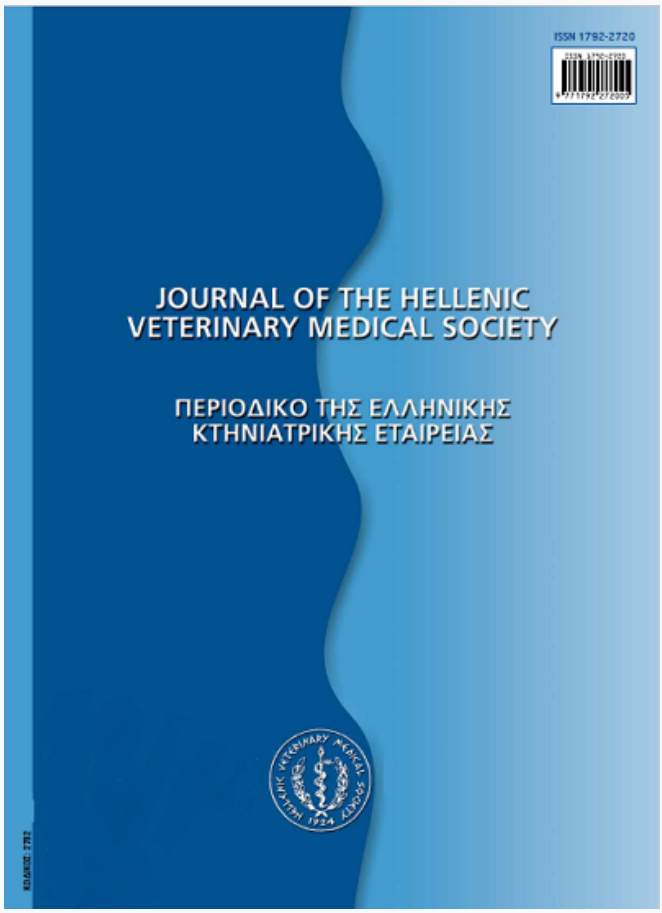
ePublishing

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 55, No 3 (2004)



Determination of breakthrough maternal antibodies titres by two intermediate and two intermediate plus vaccine strains against Gumboro disease, in commercial broilers

P. BOUGIOUKLIS (Π. ΜΠΟΥΓΙΟΥΚΛΗΣ), I. GEORGOPOULOU (Ι. ΓΕΩΡΓΟΠΟΥΛΟΥ), P. IORDANIDIS (Π. ΙΟΡΔΑΝΙΔΗΣ)

doi: 10.12681/jhvms.15097

To cite this article:

BOUGIOUKLIS (Π. ΜΠΟΥΓΙΟΥΚΛΗΣ) P., GEORGOPOULOU (Ι. ΓΕΩΡΓΟΠΟΥΛΟΥ) I., & IORDANIDIS (Π. ΙΟΡΔΑΝΙΔΗΣ) P. (2017). Determination of breakthrough maternal antibodies titres by two intermediate and two intermediate plus vaccine strains against Gumboro disease, in commercial broilers. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *55*(3), 217–225. https://doi.org/10.12681/jhvms.15097

https://epublishing.ekt.gr | **e-Publisher:** EKT | **Downloaded at:** 26/01/2026 01:30:48

ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ 2004, 55(3): 217-225
JOURNAL OF THE HELLENIC VETERINARY MEDICAL SOCIETY 2004, 55(3): 217-225

Ερευνητική
Original article

Καθορισμός τίτλων παρέμβασης των μητρικών αντισωμάτων έναντι της νόσου Gumboro, με δύο ενδιάμεσα και δύο διεισδυτικά εμβολιακά στελέχη, σε κρεοπαραγωγά ορνίθια

Π. Μπουγιουκλής, Ι. Γεωργοπούλου, Π. Ιορδανίδης

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Δύο πειραματισμοί σε επίπεδο εκτροφής, οι Α και Β, πραγματοποιήθηκαν ο καθένας σε 4 πτηνοτροφεία (ομάδες) των 20.000 κρεοπαραγωγών ορνιθίων έκαστο. Οι ομάδες στον Α και Β ονομάστηκαν Α1, Α2, Α3, Α4 και Β1, Β2, Β3, Β4. Τα ορνίθια στον Α προέρχονταν από γεννήτορες ηλικίας 39, 43, 46, και 50 εβδομάδων και στο Β από 27, 31, 52 και 54 εβδομάδων, αντίστοιχα. Σε κάθε πειραματισμό πραγματοποιήθηκε ένας εμβολιασμός σε κάθε ομάδα, για τη νόσο Gumboro, στο πόσιμο νερό. Στις ομάδες 1 και 2 χορηγήθηκαν τα διεισδυτικά εμβόλια Ι και ΙΙ και στις ομάδες 3 και 4 τα ενδιάμεσα Ι και ΙΙ, αντίστοιχα. Στον Α οι εμβολιασμοί πραγματοποιήθηκαν τη 15η ημέρα και στο Β τη 19η ημέρα της ζωής τους. Διενεργήθηκαν αιμοληψίες στις 8, 15, 19, 23, 30 και 37 ημέρες και στους δύο πειραματισμούς. Από την εξέταση των ορών με τη μέθοδο της ELISA, διαπιστώθηκε ότι στις ομάδες Α1, Α2, Α3 και Α4 οι εμβολιασμοί πραγματοποιήθηκαν παρουσία μέσων τίτλων μητρικών αντισωμάτων 7,1 $\log_2$, 7,2 $\log_2$, 6,3 $\log_2$ και 6,4 $\log_2$, αντίστοιχα. Παρατηρήθηκε φθίνουσα πορεία των αντισωμάτων και στις 4 ομάδες έως την 37η ημέρα. Στις ομάδες Β1, Β2, Β3 και Β4 οι εμβολιασμοί πραγματοποιήθηκαν παρουσία μέσων τίτλων μητρικών αντισωμάτων 7,3 $\log_2$, 7,4 $\log_2$, 3,2 $\log_2$ και 3,3 $\log_2$, αντίστοιχα. Παρατηρήθηκε ισχυρή ορολογική αντίδραση και στις 4 ομάδες από την 30η ημέρα. Αξιοσημείωτο είναι ότι τα διεισδυτικά στελέχη σε τίτλους μητρικών αντισωμάτων 7,3 $\log_2$ και 7,4 $\log_2$ προκάλεσαν ορολογική αντίδραση στις Β1 και Β2 ομάδες, αντίστοιχα, σε αντίθεση με ό,τι συνέβη σε παρόμοιους τίτλους μητρικών αντισωμάτων στις ομάδες Α1 και Α2. Η σημαντική αυτή παρατήρηση αποτελεί ένδειξη ότι πιθανόν και η ηλικία να είναι από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα των εμβολιασμών, εκτός από την παρέμβαση των μητρικών αντισωμάτων και τη λοιμογόνο δύναμη των εμβολιακών στελεχών. Από τη μελέτη των αποτελεσμάτων των δύο πειραματισμών προκύπτει ότι τα δύο ενδιάμεσα εμβόλια τη 15η ημέρα δε διαπέρασαν τίτλους μεγαλύτερους από 6,3 $\log_2$, ενώ τα δύο διεισδυτικά εμβόλια διαπέρασαν μέσους τίτλους μητρικών αντισωμάτων μικρότερους από 7,4 $\log_2$ τη 19η ημέρα.

Λέξεις ευρετηρίασης: Gumboro, εμβόλια, παρέμβαση, μητρικά αντισώματα, κρεοπαραγωγά ορνίθια.

Κλινική Παθολογίας των Πτηνών, Τμήμα Κτηνιατρικής
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Ημερομηνία υποβολής: 11.06.2004
Ημερομηνία εγκρίσεως: 03.11.2004

Determination of breakthrough maternal antibodies titres by two intermediate and two intermediate plus vaccine strains against Gumboro disease, in commercial broilers

Bougiouklis P., Georgopoulou I., Iordanidis P.

ABSTRACT. Two field trials (termed A and B) were carried out on 4 farms (groups) with 20,000 broilers each. The groups in A and B were named A1, A2, A3, A4 and B1, B2, B3, B4, respectively. The chicks in A were hatched from breeders of 39, 43, 46, and 56 weeks-old and in B from 27, 31, 52, and 54 weeks-old. One vaccination to each group was administered against Gumboro in drinking water, in each trial. Intermediate plus vaccines I and II were used in groups 1 and 2 and intermediate I and II in groups 3 and 4. In A the vaccinations were conducted when the chicks were 15-days-old and in B at 19-days-old. In both trials blood samples were collected at 8, 15, 19, 23, 30 and 37 days of age. Serum examinations by ELISA established that in groups A1, A2, A3 and A4 vaccinations were carried out in the presence of mean maternal antibody titres 7.1 $\log_2$, 7.2 $\log_2$, 6.3 $\log_2$ and 6.4 $\log_2$, respectively. A regression of antibodies up to 37 days were observed in these 4 groups. In groups B1, B2, B3 and B4 the vaccinations were carried out in the presence of mean maternal antibody titres 7.3 $\log_2$, 7.4 $\log_2$, 3.2 $\log_2$ and 3.3 $\log_2$, respectively. A strong serological response from 30 days was observed in these 4 groups. It is remarkable that intermediate plus vaccines to 7.3$\log_2$ and 7.4$\log_2$ mean maternal antibody titres caused active immune response in groups B1 and B2, respectively, contrary to what happened to similar titres in groups A1 and A2. This important observation showed that age may be one of the main factors that influences the effectiveness of vaccinations, as well as the interference of maternal antibodies and the virulence of vaccines strains. The results of both field trials indicate that both intermediate vaccines at 15-days-old did not breakthrough mean maternal antibody titres higher than 6.3 $\log_2$, whereas intermediate plus vaccines succeded to breakthrough mean maternal antibody titres lower than 7.4 $\log_2$ at 19-days-old.

Key words: Gumboro, vaccines, interference, maternal antibodies, broilers

Clinic of Avian Medicine, School of Veterinary Medicine
Aristotle University of Thessaloniki

Submission date: 11.06.2004
Approval date: 03.11.2004

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ιός της νόσου Gumboro (Infectious Bursal Disease Virus, IBDV) είναι RNA-ιός, ο οποίος προσβάλλει τις πρόδρομες μορφές των Β λεμφοκυττάρων (Fadly και συν. 1976). Η νόσος Gumboro (Infectious Bursal Disease, IBD) προκαλεί νοσηρότητα, θνησιμότητα και ανοσοκαταστολή σε ορνίθια ηλικίας κυρίως μεταξύ 3 έως 7 εβδομάδων (Nakamura και συν. 1992), οι δε οικονομικές επιπτώσεις της νόσου στα προσβεβλημένα σμήνη είναι πολύ σημαντικές (Van den Berg 2000) και εκτιμάται ότι φθάνουν περίπου τα € 0,25-0,30 ανά πτηνό (Wit 2001). Ο εμβολιασμός είναι το κύριο μέσο για τον έλεγχο της νόσου, όμως έως σήμερα, παρά την εφαρμογή εμβολιασμών, η IBD παραμένει ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα της συστηματικής πτηνοτροφίας. Η προστασία των νεαρών ορνιθίων, τις δύο πρώτες εβδομάδες της ζωής τους, επιτυγχάνεται με τα μητρικά αντισώματα. Η υπερανοσοποίηση των γεννητόρων είναι πλέον κοινή πρακτική, ώστε να δημιουργηθούν υψηλοί τίτλοι αντισωμάτων κατά την περίοδο της ωοτοκίας τους (Giamborne και συν. 1982). Οι τίτλοι των γεννητόρων φθάνουν στο μέγιστο επίπεδο λίγο μετά την 23η εβδομάδα και στη συνέχεια φθίνουν έως το πέρας της αναπαραγωγικής τους περιόδου, περίπου την 60η εβδομάδα. (Gardin 1991). Η ενεργητική ανοσοποίηση, με εμβολιασμό, των νεαρών ορνιθίων φορέων μητρικών αντισωμάτων, στις ηλικίες από την 1η έως τη 12η ημέρα της ζωής τους, δεν είναι αποτελεσματική, εξαιτίας της ανωριμότητας του ανοσοποιητικού τους συστήματος (Giamborne και συν. 1982, Giamborne και Clay 1986, Solano και συν. 1986) και της παρέμβασης των μητρικών αντισωμάτων (Kouwenhoven και Van de Bos 1994, Lutticken και συν. 1994, Maas και συν. 2001). Η αποτελεσματικότητα των εμβολιασμών, από τη δεύτερη εβδομάδα της ζωής τους, εξαρτάται από δύο καθοριστικούς παράγοντες, την παρέμβαση των μητρικών αντισωμάτων (Lutticken και συν. 1994, Maas και συν. 2001) και τη λοιμογόνο δύναμη των εμβολιακών στελεχών (Haddad και συν. 1997, Van Loon και συν. 2001). Τα εμβολιακά στελέχη χαρακτηρίζονται ανάλογα με τη λοιμογόνο δύναμή τους σε ήπια, ενδιάμεσα και διεισδυτικά. Η λοιμογόνος δύναμη των εμβολίων καθορίζεται από το βαθμό των ιστολογικών αλλοιώσεων που προκαλούν στο θύλακο του Fabricius. Επίσης, η αποτελεσματικότητα των εμβολιασμών επηρεάζεται και από παράγοντες οι οποίοι δε θεωρούνται καθοριστικοί, ένας εκ των οποίων είναι η ηλικία των ορνιθίων κατά τον εμβολιασμό (Maas και συν. 2001).

Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν να διερευνήσουμε την αποτελεσματικότητα των εμβολιασμών έναντι της IBD σε κρεοπαραγωγά ορνίθια, εκτιμώντας την ορολογική απάντηση και καθορίζοντας τους τίτλους παρέμβασης των μητρικών αντισωμάτων ανάλογα με τη λοιμογόνο δύναμη των εμβολίων και την ηλικία των ορνιθίων.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Εμβολιακά στελέχη. Επιλέχθηκαν δύο ενδιάμεσα και δύο διεισδυτικά εμβολιακά στελέχη, με κριτήριο την ευ-

INTRODUCTION

The Gumboro disease virus (Infectious Bursal Disease Virus, IBDV) is RNA-virus targeting primarily B cells (Fadly et al. 1976). The Infectious Bursal Disease (IBD) causes morbidity, mortality and immunosuppression mainly in 3 to 7-week-old chickens (Nakamura et al. 1992), resulting in severe economic consequences for the flocks affected (Van den Berg 2000), estimated at approximately € 0,25-0,30 per bird (Wit 2001). Vaccination against IBD is a strong tool in controlling the disease, however, despite vaccinations, IBD remains one of the most serious problems of the poultry industry. Protection of the young progeny, during the first two weeks of their life, is achieved with maternal antibodies. Hyperimmunization of breeder hens is common, aiming to generate high antibody titres during their laying period (Giamborne et al. 1982). Titres reach their peak soon after the 23rd week, followed by a decrease at the end of their reproduction period, about the 60th week (Gardin 1991). Active immunization of young progeny with maternal antibodies (Mab) by vaccination, at 1 to 12-days-old of their life, is not effective due to the immaturity of their immune systems (Giamborne et al. 1982, Giamborne and Clay 1986, Solano et al. 1986) and the interference of maternal antibodies (Kouwenhoven and Van den Boss 1994, Lutticken et al. 1994, Maas et al. 2001). The effectiveness of vaccinations during the second week of the progeny's life depends on two decisive factors: the interference of the maternal antibodies (Lutticken et al. 1994, Maas et al. 2001) and the virulence of the vaccines' strains (Haddad et al. 1997, Van Loon et al. 2001). Vaccines' strains are characterized, according to their virulence in mild, intermediate and intermediate plus. The vaccines' virulence is determined by the histological lesions degree of the bursa of Fabricius. Furthermore, the effectiveness of vaccinations on the progeny also depends on other factors which may be considered as not decisive, one of these being the age at vaccination (Maas et al. 2001).

The purpose of this study was to investigate the effectiveness of vaccination against IBD on broilers, looking into the serological response and determine the breakthrough maternal antibody titres in regard to the virulence of vaccines and the age of chicks.

MATERIALS AND METHODS

Vaccine strains. Two intermediate and two intermediate plus vaccines were selected, given their massive use by producers in our country. Vaccines, which were used in this study, were two intermediate plus named as intermediate plus I and intermediate plus II and two intermediate named as intermediate I and intermediate II, respectively. Vaccines were administered via drinking water, following the instructions of the respective manufacturers.

Chickens. Chicks were of broiler type, from breeders

ρεία χρησιμοποίησή τους από τους παραγωγούς της χώρας μας. Τα εμβολιακά στελέχη που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη ήταν δύο διεισδυτικά, που ονομάστηκαν διεισδυτικό Ι και διεισδυτικό ΙΙ και δύο ενδιάμεσα που ονομάστηκαν ενδιάμεσο Ι και ενδιάμεσο ΙΙ. Οι εμβολιασμοί πραγματοποιήθηκαν στο πόσιμο νερό σύμφωνα με τις οδηγίες των παρασκευαστριών εταιρειών.

Ορνίθια. Τα νεαρά ορνίθια ήταν κρεοπαραγωγικού τύπου, προέρχονταν από γεννήτορες φυλής Cobb X Cobb εμβολιασμένους έναντι της IBD, με ενδιάμεσο εμβόλιο στο πόσιμο νερό, τη 16η και την 60η ημέρα της ζωής τους και με δύο αδρανοποιημένα εμβόλια, τριπλό (IBD, ψευδοπανώλη, βρογχίτιδας) και πνευμονοϊού, με ενέσιμη χορήγηση τη 18η εβδομάδα.

Πειραματισμός Α. Πραγματοποιήθηκε σε 4 πτηνοτροφεία, δίχως ιστορικό της IBD στις προηγούμενες εκτροφές, των 20.000 ορνιθίων έκαστο, τα οποία ονομάστηκαν ομάδες και αριθμήθηκαν ως Α1, Α2, Α3, Α4. Τα ορνίθια προέρχονταν από γεννήτορες ηλικίας 39, 43, 46 και 50 εβδομάδων, αντίστοιχα, ώστε οι τίτλοι των μητρικών αντισωμάτων τους να είναι από υψηλοί έως χαμηλοί. Τα ορνίθια κάθε ομάδας εμβολιάσθηκαν τη 15η ημέρα της ζωής τους ως εξής: η Α1 με το διεισδυτικό Ι, η Α2 με το διεισδυτικό ΙΙ, η Α3 με το ενδιάμεσο Ι και η Α4 με το ενδιάμεσο ΙΙ. Σε κάθε ομάδα στην ηλικία των 8 ημερών σημάνθηκαν 20 ορνίθια, από τα οποία έγινε αιμοληψία την 8η, 15η, 19η, 23η, 30η και 37η ημέρα της ζωής τους. Κατά τη διάρκεια του πειραματισμού νεκροτομούνταν όλα τα νεκρά ορνίθια.

Πειραματισμός Β. Το πρωτόκολλο του πειραματισμού αυτού ήταν όπως του Α και πραγματοποιήθηκε, επίσης, σε 4 πτηνοτροφεία, δίχως ιστορικό της νόσου στις προηγούμενες εκτροφές, των 20.000 ορνιθίων έκαστο, τα οποία ονομάστηκαν ομάδες και αριθμήθηκαν ως Β1, Β2, Β3 και Β4. Τα ορνίθια προέρχονταν από γεννήτορες ηλικίας 27, 31, 52 και 54 εβδομάδων, αντίστοιχα, ώστε οι τίτλοι των μητρικών αντισωμάτων τους να είναι από υψηλοί έως χαμηλοί. Τα ορνίθια κάθε ομάδας εμβολιάσθηκαν τη 19η ημέρα της ζωής τους ως εξής: η Β1 με το διεισδυτικό Ι, η Β2 με το διεισδυτικό ΙΙ, η Β3 με το ενδιάμεσο Ι και η Β4 με το ενδιάμεσο ΙΙ. Σε κάθε ομάδα στην ηλικία των 8 ημερών σημάνθηκαν 20 ορνίθια, από τα οποία έγινε αιμοληψία τις ίδιες ημέρες με τον πειραματισμό Α και κατά τη διάρκεια του πειραματισμού νεκροτομούνταν όλα τα νεκρά ορνίθια.

Μέθοδος ELISA. Χρησιμοποιήθηκε εμπορικό kit της εταιρείας IDEXX FlockChek standard (IDEXX Corporation, Westbrook, ME, USA) για την ανίχνευση των αντισωμάτων έναντι του IBDV, ακολουθώντας τις οδηγίες της παρασκευάστριας εταιρείας.

Ορροί. Για τον καθορισμό των τίτλων των αντισωμάτων, 960 ορροί συλλέχθηκαν και από τους δύο πειραματισμούς. Διατηρήθηκαν στους –20°C έως το τέλος των πειραματισμών και ακολούθως εξετάσθηκαν, όπως έχει περιγραφεί (Wit και συν. 2001). Οι ορροί εξετάσθηκαν μεμονωμένα με

Cobb X Cobb line, vaccinated against IBD with intermediate vaccine in the drinking water at 16 and 60-days-old, as well as with two inactivated vaccines, 3-valent vaccine (IBD, ND, IB) and TRT, administered by injection at the 18th week.

Trial A. It was carried out on 4 farms without history of IBD on previous beedings with 20.000 chickens on each one with the experiments numbered as A1, A2, A3, A4. The progeny hatched from breeders at 39, 43, 46 and 50-weeks-old, respectively to ensure that their maternal antibody titres ranged from high to low. The chicks of each farm were vaccinated at 15-days-old as follows: A1 with intermediate plus I, A2 with intermediate plus II, A3 with intermediate I and A4 with intermediate II. On each farm 20, 8-day-old chicks, were marked and from whom blood samples were collected at 8, 15, 19, 23, 30 and 37-days-old. All dead chicks were necropsised.

Trial B. The protocol of this trial was the same as trial A and was also carried out on 4 farms, without history of IBD on previous beedings with 20.000 chicks each, and were named and numbered B1, B2, B3, B4. The progeny was hatched from breeders at 27, 31, 52 and 54-weeks-old, respectively to ensure that their maternal antibody titres ranged from high to low. The chicks of each farm were vaccinated at 19-days-old, as follows: B1 with intermediate plus I, B2 with intermediate plus II, B3 with intermediate I and B4 with intermediate II. On each farm 20, 8-day-old chicks were marked and from whom blood samples were collected at the same days as in experiment A. All dead chicks were necropsised.

ELISA's. A commercially available ELISA's for the detection of antibodies against IBDV was purchased and assayed as indicated by the manufacturer instructions, namely IDEXX FlockChek standard (IDEXX Corporation, Westbrook, ME, USA).

Sera. For antibody titres' determination, 960 sera were collected from both experiments and were stored at –20°C until the end of the experiments and then tested as described (Wit et al., 2001). Sera were examined separately by the ELISA and values were given in $\log_2$. Subsequently in each group the average value of the separate titres by age was calculated.

Statistical analysis. Data was subjected to one-way analysis of variance (One-way ANOVA). Differences among the mean values were determined by Duncan's-test with the statistical significance set at $P < 0.05$.

Coefficient of variation. The coefficient of variation (CV) is an indicator of individual value dispersal with regards to titre mean. CV was calculated according to the following formula:

$CV = \sigma \times 100 / m$,

σ = standard deviation of titres,

m = arithmetic mean titre.

CV was expressed as a percentage and interpretation

τη μέθοδο της ELISA και αποδόθηκαν σε τιμές $\log_2$. Ακολούθως σε κάθε ομάδα υπολογίζονταν ο μέσος όρος των μεμονωμένων τίτλων ανά ηλικία.

Στατιστική ανάλυση. Χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση της διακύμανσης (One-way ANOVA). Ο προσδιορισμός των διαφορών ανάμεσα στις τιμές έγινε με το Duncan-test. Ως όριο στατιστικής σημαντικότητας χρησιμοποιήθηκε το $P<0.05$.

Συντελεστής Μεταβλητότητας. Ο Συντελεστής Μεταβλητότητας (ΣΜ) είναι δείκτης της διακύμανσης των μεμονωμένων τιμών στον αντίστοιχο μέσο τίτλο. Ο ΣΜ υπολογίζεται σύμφωνα με τη παρακάτω συνάρτηση:

$\Sigma M = \sigma \times 100 / m$,

σ = σταθερή διακύμανση των τίτλων,

m = αριθμητικός μέσος τίτλος.

Ο ΣΜ εκφράσθηκε σε ποσοστό επί τοις % και η ερμηνεία των τιμών του ΣΜ έγινε σύμφωνα με τα παρακάτω όρια:

ΣΜ τιμές	Ερμηνεία
< 30%	Πολύ ομοιογενείς
30% - 50%	Ομοιογενείς
50% - 80%	Λίγο ομοιογενείς
> 80%	Ετερογενείς
> 150%	Πολύ ετερογενείς

Η ομοιογένεια των τίτλων είναι το σημαντικότερο κριτήριο στην εκτίμηση της αποτελεσματικότητας του εμβολιασμού και της ανοσοποίησης σμήνους (Conte and Borne 2001).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Πειραματισμός Α. Οι μέσοι τίτλοι των αντισωμάτων με την ELISA των 4 ομάδων του πειραματισμού Α δίδονται στον πίνακα 1. Οι μέσοι τίτλοι των μητρικών αντισωμάτων κατά τον εμβολιασμό με τα δύο διεισδυτικά στελέχη τη 15η ημέρα στις ομάδες Α1 και Α2 ήταν 7,1 $\log_2$ και 7,2 $\log_2$, αντίστοιχα. Παρατηρήθηκε σταδιακά σημαντική μείωση ($P<0.05$) αυτών έως την 37η ημέρα φτάνοντας σε 1,8 $\log_2$ και 1,5 $\log_2$, αντίστοιχα. Στις ομάδες Α3 και Α4, όπου χρησιμοποιήθηκαν τα ενδιάμεσα στελέχη κατά τον εμβολιασμό τη 15η ημέρα, οι μέσοι τίτλοι ήταν 6,3 $\log_2$ και 6,4 $\log_2$, αντίστοιχα. Παρατηρήθηκε σταδιακά σημαντική μείωση ($P<0.05$) αυτών έως την 37η ημέρα φτάνοντας σε 1,1 $\log_2$ και 0,1 $\log_2$, αντίστοιχα. Η πορεία των τίτλων των αντισωμάτων στις ομάδες Α1, Α2, Α3 και Α4 φαίνεται στο διάγραμμα 1. Τα νεκρά ορνίθια προέρχονταν από τα μη σεσημασμένα και η θνησιμότητα σε όλες τις ομάδες κυμάνθηκε από 3,5% έως 4,0%. Από τη μακροσκοπική εξέταση των νεκρών ορνιθίων διαπιστώθηκαν αλλοιώσεις «καρδιακής ανακοπής» και δεν αφορούσαν στη νόσο Gumboro.

Πειραματισμός Β. Οι μέσοι τίτλοι των αντισωμάτων με την ELISA των 4 ομάδων του πειραματισμού Β δίδονται

of CV values was made according to the following thresholds:

CV values	Interpretation
< 30%	Very homogeneous
30% - 50%	Homogeneous
50% - 80%	Poorly homogeneous
> 80%	Heterogeneous
> 150%	Very heterogeneous

The homogeneity of the titres is the most significant criterion in the evaluation of the vaccine's effectiveness and flock immunization (S. Conte and P. Borne 2001).

RESULTS

Trial A. The mean ELISA antibody titres of the 4 groups in trial A are given in table 1. Mean antibody titres at 15-days-old vaccination, with the two intermediate plus strains, in groups A1 and A2, were 7.1 $\log_2$ and 7.2 $\log_2$, respectively. A progressive significanct decrease ($P<0.05$) was observed up to 37-days-old, arrived at 1,8 $\log_2$ and 1,5 $\log_2$, respectively. Mean antibody titres at 15-days-old vaccination, with the two intermediate strains, in groups A3 and A4 were 6.3 $\log_2$ and 6.4 $\log_2$, respectively. A progressive significanct decrease ($P<0.05$) was observed up to 37-day-old, arrived at 1,1 $\log_2$ and 0,1 $\log_2$, respectively. Mean antibody titres course in groups A1, A2, A3 and A4 are presented in figure 1. Dead chickens necropsy showed no important macroscopic lesions.

Trial B. The mean ELISA antibody titres of the groups in trial B are given in table 2. Mean antibody titres at 19-days-old vaccination, with the two intermediate plus strains in B1 and B2, were 7.3 $\log_2$ and 7.4 $\log_2$, respectively. A progressive significanct increase ($P<0.05$) was observed up to 37-days-old, arrived at 12,7 $\log_2$ and 12,8 $\log_2$, respectively. Mean antibody titres at 19-days-old vaccination, with the two intermediate strains in B3 and B4, were 3.2 $\log_2$ and 3.3 $\log_2$, respectively. A progressive significanct increase ($P<0.05$) was observed up to 37-days-old, arrived at 12,9 $\log_2$ and 12,6 $\log_2$, respectively. Mean antibody titres in groups B1, B2, B3 and B4 are presented in figure 2. Dead chickens necropsy showed no important macroscopic lesions.

DISCUSSION-CONCLUSIONS

Chick vaccination represents the main controlling method of IBD. The most important problem with the active immunisation of young immune progeny is determining the age of vaccine administration, in order to be effective. From the early 1990s in Europe (Kouwenhoven and Van den Bos 1994), as well as in our country (Bougiouklis et al. 2000), there has been an increase in epidemic cases of IBD in layer and broiler chickens. For their protection the use of mild vaccines was discontinued and vaccinations with live intermediate or

Πίνακας 1. Μέσοι τίτλοι (±SD) (ΣΜ) των αντισωμάτων, έναντι του IBDV, σε log_2 για κάθε ομάδα του πειραματισμού Α ανά ηλικία των ορνιθίων και η ηλικία των γεννητόρων τους.

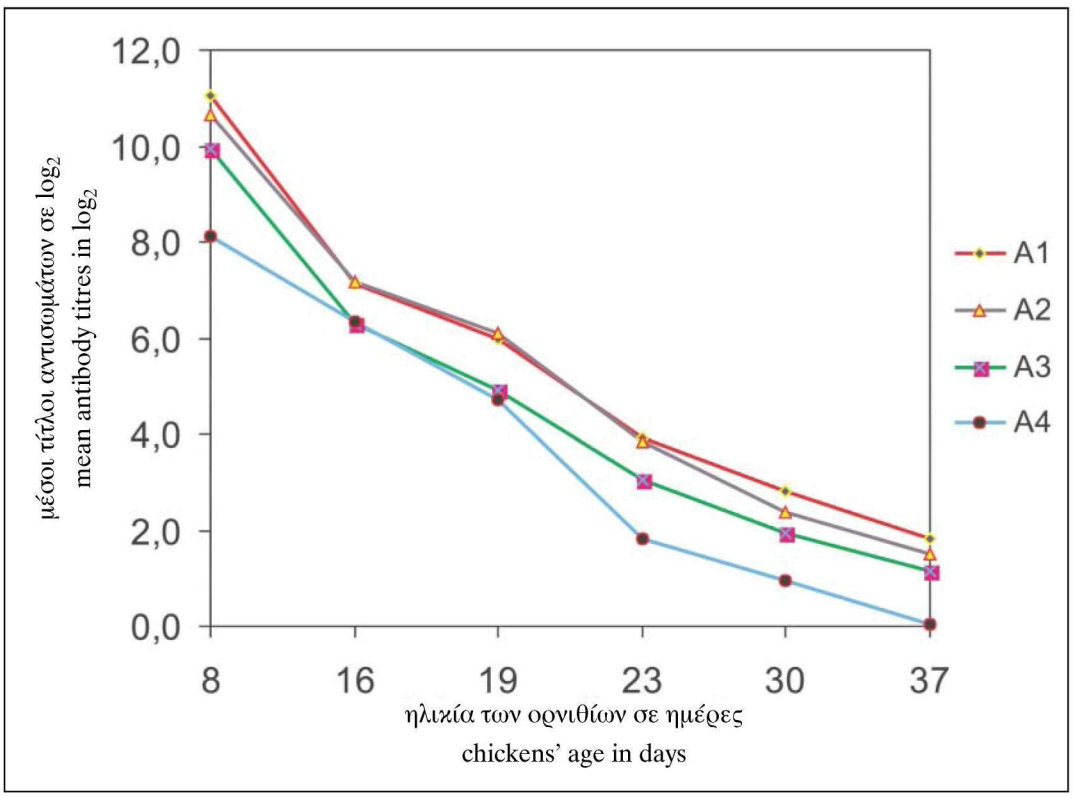
Εμβολιακά στελέχη	Ομάδες	Ηλικία των ορνιθίων σε ημέρες 8	15*	19	23	30	37
Διεισδ. I	IA1[AB1]	11,1[a] ±1,9(17)[1]	7,1[b] ±1,3(18)	6,0[c] ±1,1(17)	3,9[d] ±0,7(18)	2,8[e] ±0,8(29)	1,8[f]±0,5(28)
Διεισδ. II	A2A[B2]	10,7[a] ±2,5(23)	7,2[b] ±1,5(21)	6,1[c] ±1,4(23)	3,8[d] ±0,7(18)	2,4[e] ±0,5(21)	1,5[f]±0,3(20)
Ενδιάμ. I	A3A[B3]	9,9[a] ±1,9(19)	6,3[b] ±1,2(19)	4,9[c] ±1,1(22)	3,0[d] ±1,0(33)	2,0[e]±0,9(45)	1,1[f]±0,6(54)
Ενδιάμ. II	A4A[B4]	8,1[a] ±1,2(15)	6,4[b] ±0,9(14)	4,7[c] ±0,7(15)	1,8[d] ±0,3(17)	1,0[e] ±0,3(30)	0,1[f]±0,2(200)

[AB]: Ηλικία των γεννητόρων σε εβδομάδες, [AB1]=39εβδ, [AB2]=43εβδ, [AB3]=46εβδ, [AB4]=50εβδ
* . Ηλικία χορήγησης του εμβολίου
a, b, c, d, e, f: Οι μέσοι τίτλοι σε κάθε σειρά με διαφορετικό εκθέτη διαφέρουν σημαντικά (P<0,05)
±. Τυπική Απόκλιση
[1]. Στην παρένθεση ο Συντελεστής Μεταβλητότητας % (ΣΜ)

Table 1. Mean antibody titres (±SD) (CV) in log_2, against IBDV, per chicken age for each group of trial A and their breeder age

Vaccine strains	Groups	Age of chicks in days 8	15*	19	23	30	37
Inter. Plus I	IA1[AB1]	11,1[a] ±1,9(17)[1]	7,1[b] ±1,3(18)	6,0[c] ±1,1(17)	3,9[d] ±0,7(18)	2,8[e] ±0,8(29)	1,8[f]±0,5(28)
Inter. Plus II	A2[AB2]	10,7[a] ±2,5(23)	7,2[b] ±1,5(21)	6,1[c] ±1,4(23)	3,8[d] ±0,7(18)	2,4[e] ±0,5(21)	1,5[f]±0,3(20)
Intermed. I	A3[AB3]	9,9[a] ±1,9(19)	6,3[b] ±1,2(19)	4,9[c] ±1,1(22)	3,0[d] ±1,0(33)	2,0[e]±0,9(45)	1,1[f]±0,6(54)
Intermed. II	A4[AB4]	8,1[a] ±1,2(15)	6,4[b] ±0,9(14)	4,7[c] ±0,7(15)	1,8[d] ±0,3(17)	1,0[e] ±0,3(30)	0,1[f]±0,2(200)

[AB]: Age of breeders in weeks, [AB1]=39w, [AB2]=43w, [AB3]=46w, [AB4]=50w
* . Age of vaccination
a, b, c, d, e, f: Mean titres in each row with different superscript have significant difference (P<0,05)
±. Standard Deviation
[1]. In parenthesis the Coefficient of variation % (CV)



Σχήμα 1. *Πορεία των μέσων τίτλων των αντισωμάτων όλων των ομάδων του πειραματισμού Α.*

Figure 1. *Course of the mean antibody titres of all groups in trial A.*

Πίνακας 2. Μέσοι τίτλοι (±SD) (ΣΜ) των αντισωμάτων, έναντι του IBDV, σε $\log_2$ για κάθε ομάδα του πειραματισμού Β ανά ηλικία των ορνιθίων και η ηλικία των γεννητόρων τους.

Εμβολιακά στελέχη	Ομάδες	Ηλικία των ορνιθίων σε ημέρες 8	15	19*	23	30	37
Διεισδ. Ι	B1[AB1]	12,1[a] ±1,7(14)[1]	8,4[b] (1,1(12)	7,3[c] ±1,0(14)	4,1[e] (0,9(22)	5,7[d] ±0,5(9)	12,7[a] ±0,4(3)
Διεισδ. ΙΙ	B2[AB2]	11,3[b] ±1,6(14)	8,2[c] ±1,6(20)	7,4[d] ±1,6(22)	4,7[f] ±1,5(32)	6,0[e] ±1,1(17)	12,8[a] ±0,4(3)
Ενδιάμ. Ι	B3[AB3]	6,4[c] ±1,0(16)	4,5[d] ±0,7(16)	3,2[e] ±0,6(19)	1,8[f] ±0,5(28)	11,4[b] ±0,7(6)	12,9[a] ±0,3(2)
Ενδιάμ. ΙΙ	B4[AB4]	6,2[c] ±0,7(11)	4,3[d] ±0,6(14)	3,3[e] ±0,5(15)	2,6[f] ±0,5(19)	9,5[b] ±0,5(5)	12,6[a] ±0,4(3)

[AB]: Ηλικία των γεννητόρων σε εβδομάδες, [AB1]=27εβδ, [AB2]=31εβδ, [AB3]=52εβδ, [AB4]=54εβδ
* . Ηλικία χορήγησης του εμβολίου
a, b, c, d, e, f: Οι μέσοι τίτλοι σε κάθε σειρά με διαφορετικό εκθέτη διαφέρουν σημαντικά (P<0,05)
±. Τυπική απόκλιση
[1] . Συντελεστής Μεταβλητότητας % (ΣΜ)

Table 2. Mean antibody titres (±SD) (CV) in $\log_2$, against IBDV, per chicken age for each group of trial B and their breeder age.

Vaccine strain	Groups	Age of chicks in days 8	15	19*	23	30	37
Διεισδ. Ι	B1[AB1]	12,1[a] ±1,7(14)[1]	8,4[b] (1,1(12)	7,3[c] ±1,0(14)	4,1[e] (0,9(22)	5,7[d] ±0,5(9)	12,7[a] ±0,4(3)
Διεισδ. ΙΙ	B2[AB2]	11,3[b] ±1,6(14)	8,2[c] ±1,6(20)	7,4[d] ±1,6(22)	4,7[f] ±1,5(32)	6,0[e] ±1,1(17)	12,8[a] ±0,4(3)
Ενδιάμ. Ι	B3[AB3]	6,4[c] ±1,0(16)	4,5[d] ±0,7(16)	3,2[e] ±0,6(19)	1,8[f] ±0,5(28)	11,4[b] ±0,7(6)	12,9[a] ±0,3(2)
Ενδιάμ. ΙΙ	B4[AB4]	6,2[c] ±0,7(11)	4,3[d] ±0,6(14)	3,3[e] ±0,5(15)	2,6[f] ±0,5(19)	9,5[b] ±0,5(5)	12,6[a] ±0,4(3)

[AB]: Age of breeders in weeks, [AB1]=27w, [AB2]=31w, [AB3]=52w, [AB4]=54w
* . Age of vaccination
a, b, c, d, e, f: Mean titres in each row with different superscript have significant difference (P<0,05)
±. Standard Deviation
[1]. In parenthesis the Coefficient of variation % (CV)

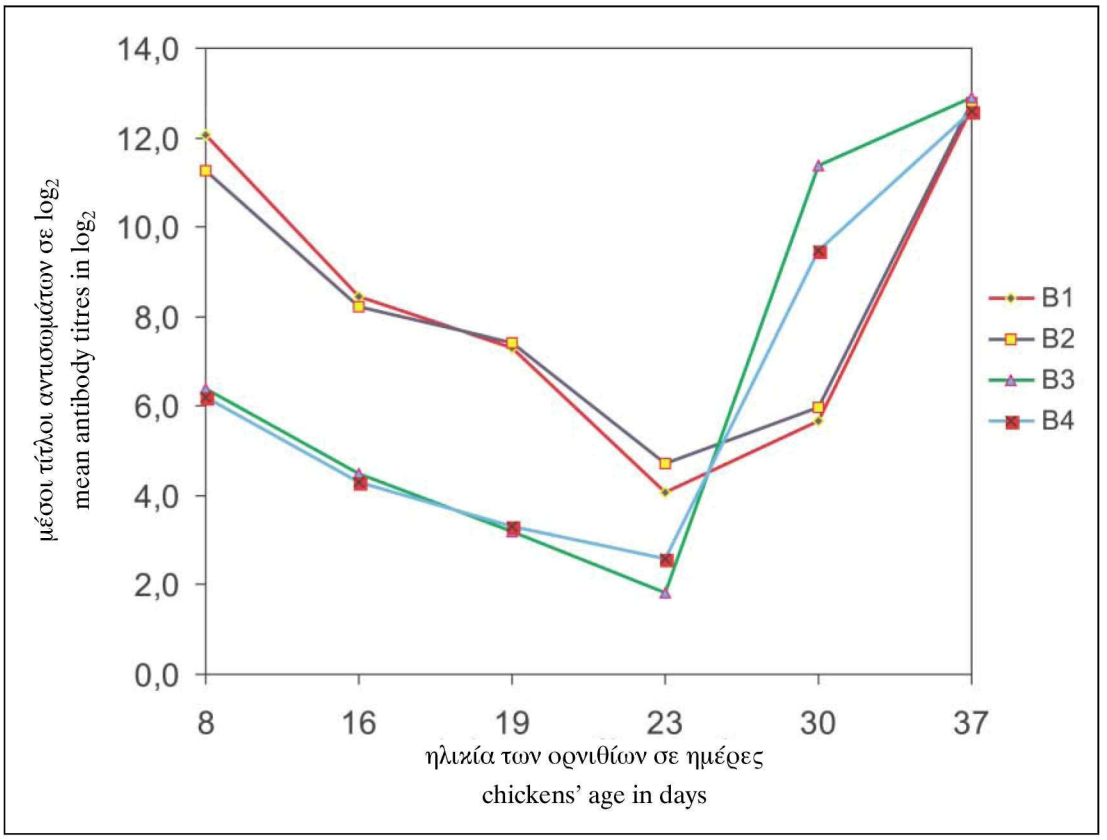
στον πίνακα 2. Οι μέσοι τίτλοι των μητρικών αντισωμάτων κατά τον εμβολιασμό με τα δύο διεισδυτικά στελέχη τη 19η ημέρα στις ομάδες Β1 και Β2 ήταν 7,3 $\log_2$ και 7,4 $\log_2$, αντίστοιχα. Παρατηρήθηκε σταδιακά σημαντική αύξηση (P<0.05) αυτών έως και την 37η ημέρα φτάνοντας σε τίτλους 12,7 $\log_2$ και 12,8 $\log_2$, αντίστοιχα. Στις ομάδες Β3 και Β4 όπου χρησιμοποιήθηκαν τα ενδιάμεσα στελέχη οι μέσοι τίτλοι ήταν 3,2 $\log_2$ και 3,3 $\log_2$, αντίστοιχα. Παρατηρήθηκε σταδιακά σημαντική αύξηση (P<0.05) αυτών έως και την 37η ημέρα φτάνοντας σε τίτλους 12,9 $\log_2$ και 12,6 $\log_2$, αντίστοιχα, με ΣΜ 2-3%. Η πορεία των τίτλων των αντισωμάτων στις ομάδες Β1, Β2, Β3 και Β4 φαίνεται στο διάγραμμα 2. Τα νεκρά ορνίθια προέρχονταν από τα μη σεσημασμένα και η θνησιμότητα σε όλες τις ομάδες κυμάνθηκε από 3,5% έως 4,0%. Από τη μακροσκοπική εξέταση των νεκρών ορνιθίων διαπιστώθηκαν αλλοιώσεις «καρδιακής ανακοπής» και δεν αφορούσαν στη νόσο Gumboro.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ανοσοποίηση των ορνιθίων με εμβολιασμό είναι η κύρια μέθοδος ελέγχου της IBD. Το σημαντικότερο πρόβλημα με την ενεργητική ανοσοποίηση των νεαρών ορνιθίων, φορέων μητρικών αντισωμάτων, είναι ο καθορι-

intermediate plus vaccine strains were used.

In a recent study, an intermediate vaccine strain was administered to commercial broilers from 8 to 16-days-old, with intervals of 3 or 8 days in between, by presence of high and low maternal antibody titres and established that there was no serological response in any of the vaccination programs (Bougiouklis 2000). The results of the present study in experiment A show that the intermediate strains did not breakthrough mean ELISA antibody titres of 6.3 $\log_2$ and 6.4 $\log_2$ and that they are consistent with Van Loon's (2001) study, which reports that intermediate strains did not breakthrough maternal antibody titres higher than 6 $\log_2$. Furthermore, Lutticken (1994) and Maas (2001) established that intermediate strains did not breakthrough maternal antibody titres higher than 7 $\log_2$. With regards to the intermediate plus strains, there are few studies on international scale, such as the one done from Van Loon (2001), which have tried to determine the interference titre of maternal antibodies, however in general, it has been reported that they breakthrough titres are lower than 8 $\log_2$ and this is the reason why this titre is used in mathematical formulas for the calculation of vaccination day (Van der Sluis 2001). Van Loon (2001) also reports that he did not observe a serological response



Σχήμα 2. *Πορεία των μέσων τίτλων των αντισωμάτων όλων των ομάδων του πειραματισμού Β.*

Figure 2. *Course of the mean antibody titres of all groups in trial B.*

σμός της ηλικίας χορήγησης του εμβολίου, ώστε αυτός να είναι αποτελεσματικός. Από τις αρχές της δεκαετίας του 1990, στην Ευρώπη (Kouwenhoven και Van de Bos 1994), αλλά και στη χώρα μας (Μπουγιουκλής και συν. 2000), υπήρξε αύξηση της IBD σε ωοπαραγωγά και κρεοπαραγωγά σμήνη. Για την προστασία των ορνιθίων διακόπηκε η χρήση των ζωντανών ήπιων εμβολίων και εφαρμόστηκαν εμβολιασμοί με ζωντανά ενδιάμεσα ή διεισδυτικά εμβολιακά στελέχη.

Σε προγενέστερη μελέτη, ένα ενδιάμεσο εμβολιακό στέλεχος χορηγήθηκε σε κρεοπαραγωγά ορνίθια ηλικίας από 8 έως 16 ημερών, με μεσοδιαστήματα 3 ή 8 ημερών, παρουσία υψηλών και χαμηλών τίτλων μητρικών αντισωμάτων και διαπιστώθηκε αδυναμία ορολογικής αντίδρασης στα εφαρμοσμένα εμβολιακά προγράμματα (Μπουγιουκλής 2000). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης στον Α πειραματισμό δείχνουν ότι τα ενδιάμεσα στελέχη δε διαπέρασαν μέσους τίτλους αντισωμάτων 6,3 $\log_2$ και 6,4 $\log_2$ και συμφωνούν με τη μελέτη του Van Loon (2001), ο οποίος αναφέρει ότι ενδιάμεσα στελέχη δε διαπέρασαν τίτλους μητρικών αντισωμάτων μεγαλύτερους από 6 $\log_2$. Επιπλέον, οι Lutticken (1994) και Maas (2001) διαπίστωσαν ότι ενδιάμεσα στελέχη δε διαπέρασαν τίτλους μητρικών αντισωμάτων μεγαλύτερους από 7 $\log_2$. Όσον αφορά στα διεισδυτικά στελέχη, είναι λίγες οι δημοσιευμένες μελέτες διεθνώς, όπως του Van Loon (2001), στην οποία γίνεται προσπάθεια προσδιορισμού του τίτλου

in 8.4 $\log_2$ and 8.6 $\log_2$ titres after vaccinations with an intermediate plus strain, whereas there had been a response at titre 5.2 $\log_2$.

In trial B, there was a serological response at 7.3 $\log_2$ and 7.4 $\log_2$ titres after vaccinations with the two intermediate strains. A remarkable fact is that at similar titres at 15-days-old vaccination in experiment A, there was no serological response with the same vaccine strains. This different serological response is possibly due to the fact that mature B lymphocytes migration from the bursa of Fabricius is observed after the age of the 2nd week and massive migration occurs after 3 to 4-weeks og age (Toivanen et al 1987). Van Loon (2001) established an intense serological response with an intermediate strain at very low titres (2.8 $\log_2$) at the age of 50 days, a fact that we also observed in experiment B, although in higher titres (3.3 $\log_2$ and 3.4 $\log_2$) after the vaccination at 19-days-old. All groups, after vaccination at 19-days-old, either with the two intermediate or with the two intermediate plus vaccine strains, presented a significant increase in mean ELISA antibody titres (12.6 $\log_2$-12.9 $\log_2$), 11 days after their vaccination. The CV at the 37-day–old mark in the 4 groups was 2-3%, representing high homogeneity of titres (Xylouri et al 1998). The homogeneity showed the increase of antibodies titres was due to vaccinations and excluded the infection of field strains (Conte and Borne 2001).

παρέμβασης των μητρικών αντισωμάτων, όμως αναφέρεται ότι διαπερνούν τίτλους μικρότερους από 8 log_2 και αυτός είναι ο λόγος που χρησιμοποιείται αυτός ο τίτλος στις μαθηματικές φόρμουλες υπολογισμού της ημέρας εμβολιασμού (Van der Sluis 2001). Ο Van Loon (2001) αναφέρει ότι σε τίτλους 8,4 log_2 και 8,6 log_2 δεν παρατήρησε ορολογική αντίδραση μετά από εμβολιασμούς με διεισδυτικό εμβολιακό στέλεχος, ενώ υπήρξε αντίδραση σε τίτλο 5,2 log_2.

Στο Β πειραματισμό παρατηρήθηκε ότι στους τίτλους 7,3 log_2 και 7,4 log_2 υπήρξε ορολογική αντίδραση μετά από τους εμβολιασμούς και με τα δύο διεισδυτικά στελέχη. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι σε παρόμοιους τίτλους σε ηλικία 15 ημερών στον Α πειραματισμό δεν υπήρξε ορολογική αντίδραση με τα ίδια εμβολιακά στελέχη. Η διαφορά αυτή στην ορολογική αντίδραση πιθανόν να οφείλεται στο γεγονός ότι στα ορνίθια η μεγάλη μετανάστευση των ώριμων Β λεμφοκυττάρων από το θύλακο του Fabricius παρατηρείται μετά τη 2η εβδομάδα και αυτή γίνεται μαζική μετά την 3η - 4η εβδομάδα της ζωής τους (Toivanen και συν. 1987). Ο Van Loon (2001) διαπίστωσε ισχυρή ορολογική αντίδραση με ενδιάμεσο στέλεχος σε πολύ χαμηλούς τίτλους (2,8 log_2) στην ηλικία των 50 ημερών, γεγονός που παρατηρήσαμε και εμείς στο Β πειραματισμό σε υψηλότερους, όμως, τίτλους (3,3 log_2 και 3,4 log_2) μετά από τον εμβολιασμό τη 19η ημέρα. Όλες οι ομάδες μετά από τον εμβολιασμό τους τη 19η ημέρα είτε με τα δύο ενδιάμεσα είτε με τα δύο διεισδυτικά εμβολιακά στελέχη παρουσίασαν σημαντική αύξηση του μέσου τίτλου των αντισωμάτων τους (12,6 log_2 - 12,9 log_2), 11 ημέρες μετά τον εμβολιασμό τους. Ο ΣΜ την 37η ημέρα και στις 4 ομάδες ήταν 2-3%, εμφανίζοντας υψηλή ομοιογένεια των τίτλων (Ξυλούρη και συν. 1998). Η ομοιογένεια αυτή αποτέλεσε ένδειξη ότι η αύξηση των τίτλων των αντισωμάτων οφειλόταν στους εμβολιασμούς και απέκλειε τη φυσική μόλυνση (Conte and Borne 2001).

Από τη μελέτη αυτή διαπιστώθηκε ότι, εκτός από την παρέμβαση των μητρικών αντισωμάτων και τη λοιμογόνο δύναμη των εμβολιακών στελεχών, πιθανόν και η ηλικία εμβολιασμού να είναι από τους κύριους παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα των εμβολιασμών, σε αντίθεση με την άποψη του Maas (2001), ο οποίος θεωρεί ότι η ηλικία εμβολιασμού είναι ήσσονος σημασίας παράγοντας στην ενεργητική ανοσοποίηση των ορνιθίων έναντι του IBDV. Από τη μελέτη των αποτελεσμάτων των πειραματισμών σε επίπεδο εκτροφής προκύπτει ότι τα δύο ενδιάμεσα εμβόλια τη 15η ημέρα δε διαπέρασαν τίτλους μεγαλύτερους από 6,3 log_2, ενώ τα δύο διεισδυτικά εμβόλια διαπέρασαν μέσους τίτλους μητρικών αντισωμάτων μικρότερους από 7,4 log_2 τη 19η ημέρα. ❑

According to the findings of this study, it has been established that, beside the interference of maternal antibodies and the virulence of the vaccine strains, the age of vaccination could possibly be one of the important factors regarding the effectiveness of vaccination, contrary to aspect of Maas (2001), who suggested that age is of secondary importance to active immunisation against IBDV. The results of both field trials indicate that both intermediate vaccines at 15-days-old did not breakthrough mean maternal antibody titres higher than 6.3 log_2, whereas intermediate plus vaccines succeded to breakthrough mean maternal antibody titres lower than 7.4 log_2 at 19-days-old. ❑

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ - REFERENCES

Bougiouklis AP (2000). A contribution to the study of immunoprotection against IBDV in chickens. Doctoral thesis.

Bougiouklis AP, Georgopoulou I, Iordanidis P (2000). Epizootic study of IBD in chickens durig the years 1990-1998 in North Greece. Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society, 51, (3):221-224.

Conte S and Borne P (2001). Monitoring vaccination with ELISA analysis. World Poultry, Elsevier International, The Netherlands, special issue (October):20-23

Gardin Y (1991). Monitoring infectious bursal disease vaccination using ELISA serology. Zootecnica International, (April):68-70

Giamborne JJ, Yu M & Eckman M (1982). Field trials with an oil emulsion infectious bursal disease vaccine in broiler breeder pullets. Poultry Science, 61:1823-1827

Giamborne JJ, Clay R (1986). Vaccination of Day-old broiler chicks against Newcastle disease and infectious bursal disease using commercial live and/or inactivated vaccines. Avian Diseases, 30:557-561

Fadly AM, Winterfield RW, Olander HJ (1976). Role of the bursa of Fabricius in the pathogenicity of inclusion body hepatitis and infectious bursal disease virus. Avian Diseases, 20:467-477

Haddad EE, Whitfill CE, Avakian AP, Ricks CA, Andrews PD, Thoma JA, Wakenell PS (1997). Efficacy of a novel infectious bursal disease virus immune complex vaccine in broiler chickens. Avian Diseases, 41:882-889

Kouwenhoven B, Van den Bos J (1994). Control of very virulent infectious bursal disease virus (Gumboro disease) in the Netherlands with more virulent vaccines. In E.F. Kaletta, U, Heffels-Redmann & H. Lange-Herbst (Eds). Proceedings of the First International Symposium on infectious bursal disease and infectious anemia, Rauischholzhauzen, Germany (June):29-32

Luttticken D, Van Loon AAW, De Vries JHR (1994). Determination of the breakthrough titre of IBD vaccines or IBD challenge strains in MDA+ chickens. In E.F. Kaletta, U, Heffels-Redmann & H. Lange-Herbst (Eds). Proceedings of the First International Symposium on infectious bursal disease and infectious anemia, Rauischholzhauzen, Germany (June): 272-279

Nakamura T, Otaki Y, Nuova T (1992). Immunosuppressive effect of a highly virulent infectious bursal disease virus isolated in Japan. Avian Diseases, 36: 891-896

Maas RA, Venema S, Oei HL, Pol JMA, Classen IJTM, Huurne AAHM (2001). Efficacy of inactivated infectious bursal disease (IBD) vaccines: comparison of serology with protection of progeny chickens against IBD virus strains of varying virulence. Avian Pathology, 30:345-354

Solano W, Giamborne JJ, Williams JC, Lauerman LH, Pangala VS, Garces C (1986). Effect of maternal antibody on timing of initial vaccination of young white leghorn chickens against infectious bursal disease virus. Avian Diseases, 30:648-652

Toivanen P, Naukkarinen A, Vainio O (1987). What is the function of bursa Fabricius? In: Avian Immunology, 1st ed, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 79

Wit JJ (2001). Counting the cost of IBDV. World Poultry, Elsevier International, The Netherlands, special issue (October):6-7

Wit JJ, Heijmans JF, Mekkes DR, Van Loon AAWM (2001). Validation of five commercial available ELISAs for the detection of antibodies against infectious bursal disease virus (serotype 1). Avian Pathology, 30:543-549

Xylouri-Frankiadaki E, M. Samouhos, D. Tambouratzis and E. Stoforos. Antibody level of Infectious Bursal Disease (IBD) in layers. Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society, 49(3):182-188.

Van den Berg TP (2000). Acute infectious bursal disease in poultry: a review. Avian Pathology, 29:175-194

Van Loon AAWM, Derkx A, Steentjes AHA (2001). Field experience with Gumboro vaccination in different layer breeds. World Poultry, Elsevier International, The Netherlands, special issue (October):28-30

Van der Sluis W (2001). Determaning the optimal age for vaccination against IBDV. World Poultry, Elsevier International, The Netherlands, special issue (October):25-26