# مقایسه تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری بورس عفونی متعاقب بیماری، با تیتر آنتی‌بادی حاصله از واکسن‌های زنده با حدت متوسط به روش هماگلوتیناسیون غیرمستقیم در جوجه‌های گوشتی

**عادل فیضی[1*]، مهران علمداری[2]، عبدالله یدالهی[3]، رضا آزموده[3]**

۱. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
۲. گروه میکروبیولوژی، اداره کل دامپزشکی تبریز، تبریز، ایران
۳. دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
*نویسنده مسئول مکاتبات: *Adel-Feizi@yahoo.com*

**(دریافت مقاله: ۸۷/۸/۸، پذیرش نهایی: ۸۸/۱/۳۱)**

## چکیده

**در این بررسی، تیتر آنتی‌بادی حاصله از ابتلا به بیماری IBD و تیتر آنتی‌بادی حاصله از واکسن‌های زنده intermediate به روش هماگلوتیناسیون غیرمستقیم در جوجه‌های گوشتی مقایسه شد. تعداد ٤۵۰ قطعه جوجه یک روزه نژاد Cobb به سه گروه ۱۵۰تایی تقسیم و در شرایط پرورشی یکسان تا ٤۲ روزگی نگه‌داری شدند. جوجه‌های گروه ۱، واکسن Bursin-2 و جوجه‌های گروه ۲، واکسن D-78 در سنین ١٤ و ۲۱ روزگی به روش آشامیدنی دریافت کردند. بقیه جوجه‌ها به عنوان شاهد (گروه ٤) در نظر گرفته شد و هیچ نوع واکسن IBD دریافت ننمودند. ۲ هفته پس از واکسن دوم IBD از تمام پرندگان نمونه سرمی اخذ شد. تعداد ۱۵۰ نمونه سرمی هم از ۳ گله گوشتی مبتلا به بیماری IBD که سابقه واکسیناسیون به روش فوق داشتند، ۲ هفته پس از مشاهده آخرین علایم بالینی گرفته شد (گروه ۳). تیتر آنتی‌بادی نمونه‌ها بر علیه ویروس IBD با روش هماگلوتیناسیون غیرمستقیم تعیین و نتایج با روش ANOVA توسط SPSS ارزیابی گردید. میانگین تیتر حاصل از واکسن Bursin-2، ۳/۱۹ و واکسن D-، ۳/۲۱ بود که کمتر از تیتر لازم برای ایجاد محافظت علیه بیماری بود. تیتر آنتی بادی در گله‌های مبتلا ۷/۱۹ بود. مقایسه میانگین تیتر حاصل از دو نوع واکسن تفاوت معنی‌داری نشان نداد ولی تیتر هر کدام از واکسن‌ها با گله مبتلا تفاوت معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). نتایج حاصل نشان داد که تیتر حاصل از واکسن‌ها با روش انجام شده به سطح محافظت کننده نرسیده و احتمال رخداد بیماری وجود خواهد داشت.**

*مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳۸۷، دوره ۲، شماره ٤، ۲۳۸-۲۷۹.*
**کلمات کلیدی:** گامبرو، جوجه‌های گوشتی، هماگلوتیناسیون غیرمستقیم، واکسن

## مقدمه

بیماری بورس عفونی (IBD) یک بیماری مهم ویروسی در جوجه‌های جوان است که توسط یک ویروس RNA دو رشته‌ای، متعلق به خانواده بیرناویریده ایجاد می‌شود (۵). این بیماری به خاطر میزان ابتلا و تلفات بالا در طول فاز حاد

بیماری یا با ایجاد تضعیف ایمنی در طی یک دوره مزمن از اهمیت عمده‌ای برخوردار است. تضعیف ایمنی در اثر این بیماری پرندگان را به عفونت‌های دیگر بسیار حساس کرده و نیز پاسخ سایر واکسن‌ها را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (۷). ابتلای پرندگان به این بیماری سبب ضبط لاشه در کشتارگاه، افزایش ضریب تبدیل و افت وزن می‌شود (۱۱).

در حال حاضر برای ایمن کردن طیور در مقابل این بیماری از واکسن‌های مختلف زنده و کشته استفاده می‌گردد. برای ارزیابی عملکرد واکسن‌ها از تست‌های تشخیص سرمی به‌ویژه هماگلوتیناسیون غیرمستقیم (IHA)، رسوب در ژل آگار و الیزا استفاده می‌گردد. تست IHA ارزان، سریع و اجزای آن آسان است (۸).

با توجه به این‌که در کیت‌های الایزا از آنتی‌ژن‌های ویروسی سایر ممالک استفاده می‌شود و در تست IHA آنتی‌ژن بکاررفته دقیقاً از ویروس‌های محلی می‌باشد، لذا ارزیابی تیتر حاصل از واکسن‌ها در روش IHA مطمئن‌تر خواهد بود.

هدف از اجرای این تحقیق، ارزیابی مقایسه‌ای تیتر آنتی‌بادی بر علیه ویروس گامبرو بعد از ابتلا به بیماری با تیتر آنتی‌بادی حاصله از واکسن‌های زنده اینترمدیت (Intermediate) به‌روش هماگلوتیناسیون غیرمستقیم در جوجه‌های گوشتی می‌باشد

## مواد و روش کار

در این مطالعه ٤۵۰ قطعه جوجه یک‌روزه نژاد Cobb در سه گروه و هر گروه شامل سه تکرار توزیع شدند. شرایط پرورشی از جمله دما، رطوبت، تراکم و تغذیه برای همه گروه‌های آزمایشی مشابه بود. در گروه اول از واکسن Bursin-2 (شرکت Vaxfact آمریکا) در گروه دوم از واکسن D-78 (شرکت Intervet هلند) در سنین ١٤ و ٢١ روزگی به طریقه آشامیدنی استفاده گردید. گروه دیگر به عنوان گروه شاهد هیچ نوع واکسن گامبورو دریافت نکردند (گروه ٤). ضمناً ۱۵۰ نمونه سرمی مربوط به فارم مبتلا به بیماری گامبورو دارای سابقه واکسیناسیون با واکسن‌های فوق به روش گفته شده (از هر کدام ۵۰ نمونه) ۲ هفته پس از مشاهده آخرین علائم بالینی به مقدار ۲ میلی‌لیتر از هر پرنده از طریق ورید بالی تهیه گردید (گروه ۳). از گروه‌های ۱ و ۲ که واکسن دریافت کرده بودند، از هر کدام ۵۰ نمونه خونی، ١٤ روز بعد از واکسیناسیون نوبت دوم به مقدار ۲ میلی‌لیتر از هر پرنده از طریق ورید بالی جمع آوری شد. نمونه‌های خونی بعد از جمع‌آوری در دمای اتاق قرار گرفته تا سرم آن‌ها جدا شود سپس سرم‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ٥٦ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در همه گروه‌های آزمایشی و شاهد جهت تعیین تیتر آنتی‌بادی بر علیه سویه فیلد و واکسینال از تست هماگلوتیناسیون غیرمستقیم (IHA) جهت آزمایش استفاده گردید.

جهت انجام این آزمایش تهیه آنتی‌ژن از بورس‌های عفونی گله‌های مبتلا به بیماری ضروری بود. لذا بورس‌های عفونی از سه فارم مبتلا جمع‌آوری و توسط دو تیغه اسکالپل خرد شدند سپس جهت تهیه سوسپانسیون ۱۰ و ۵۰ درصد، از محلول فسفات بافر سالین (PBS) استفاده گردید و با استفاده از هموژنالیزر کاملاً مخلوط شدند جهت استخراج آنتی‌ژن ویروسی، سوسپانسیون تهیه شده ۳ بار ذوب و فریز گردید. سوسپانسیون ذوب و فریز شده در دور ۵۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید و مایع رویی جمع‌آوری و به عنوان آنتی‌ژن استفاده شد. حضور آنتی‌ژن IBDV (ایزوله فیلد) در سوسپانسیون تهیه شده از بورس‌های عفونی، به‌وسیله تست آگار ژل ایمونودیفوزیون (AGID) با استفاده از سرم هایپرایمیون مرغ‌های مادر ایمن شده بر علیه ویروس گامبورو تأیید شد.

همچنین جهت تست هماگلوتیناسیون غیرمستقیم (IHA) تهیه گلبول‌های قرمز شسته انجام گرفت. برای این‌کار ۵ میلی‌لیتر خون انسانی گروه O (تهیه شده از سازمان خون استان آذربایجان شرقی) به صورت آسپتیک در یک سرنگ یک‌بار

مصرف جمع‌آوری و به یک لوله شیشه‌ای محتوی یک میلی‌لیتر سیترات سدیم (محلول ٤ درصد) منتقل گردید. خون به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۵۰۰ سانتریفوژ شد. سپس با پیپت، پلاسما و لایه بافی کوت خارج و گلبول‌های قرمز سه مرتبه با PBS شستشو داده شد. گلبول‌های قرمز شسته جهت حساس‌سازی با آنتی‌ژن، ٤۵ دقیقه در انکوباتور، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. گلبول‌های قرمز انکوبه شده سه مرتبه با PBS شسته شدند تا آنتی‌ژن اضافی حذف شود سپس محلول یک درصد از گلبول‌های قرمز حساس شده، تهیه و در آزمایش هماگلوتیناسیون غیرمستقیم استفاده گردید. جهت آزمایش از پلیت‌های میکرولیتر استفاده شد. ابتدا به تمام گودی‌ها ۲۵ $\mu l$ PBS افزوده شد سپس ۲۵ $\mu l$ سرم جوجه‌های مورد آزمایش در گودی‌های اول ریخته، رقیق‌سازی شد و ۲۵ $\mu l$ از گودی آخر خارج و حذف و ۲۵ $\mu l$ گلبول قرمز حساس شده، اضافه شد. جهت انتشار یکنواخت گلبول‌های قرمز، پلیت‌ها به آرامی تکان داده شده و به مدت ۳۰ دقیقه، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. گودی‌هایی که آگلوتیناسین به شکل ته‌نشین شدن گلبول‌های قرمز به حالت شبکه‌ای اتفاق افتاد، به عنوان مثبت و آن‌هایی که رسوب دگمه‌ای شکل مرکزی نشان می‌دادند به عنوان منفی ثبت شدند. تیتر IHA هر نمونه، عکس آخرین رقت هماگلوتیناسیون در نظر گرفته شد. نتایج حاصل توسط روش **ANOVA** و به کمک برنامه آماری SPSS تجزیه و تحلیل گردید.

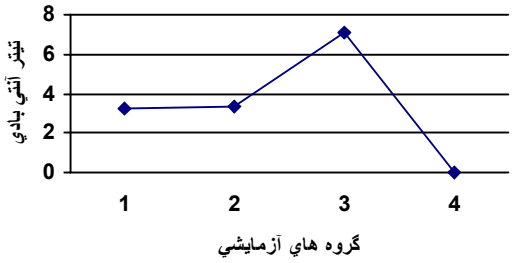
## نتایج

نتایج مربوط به تیتر آنتی‌بادی حاصل از واکسن Bursin-2 (گروه ۱)، واکسن D-78 (گروه ۲) هم‌چنین نتایج مربوط به تیتر آنتی‌بادی گله‌ای مبتلا به بیماری گامبورو (IBD) (گروه ۳) و گروه شاهد (گروه ٤) در جدول ۱ آورده شده است.

**جدول ۱**- مقایسه میانگین تیتر آنتی‌بادی در گروه‌های آزمایشی به روش هماگلوتیناسیون غیرمستقیم با ANOVA

| گروه | تکرار | تیتر آنتی‌بادی در تست هماگلوتیناسیون غیرمستقیم | | | | | | | | | میانگین تیتر هر تکرار | میانگین تیتر گروه |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ۱ | ۲ | ۳ | ٤ | ۵ | ٦ | ۷ | ۸ | ۹ | | |
| ۱ | ۱ | ٦ | ۷ | ۱٦ | ۱۲ | ۹ | – | – | – | – | ۳/۲۲[a] | ۳/۱۹[a] |
| | ۲ | ۵ | ٦ | ۱۹ | ۱۱ | ۹ | – | – | – | – | ۳/۲٦[a] | |
| | ۳ | ٦ | ۹ | ۱۷ | ۱۰ | ۸ | – | – | ٦ | ۸ | ۳/۱[a] | |
| ۲ | ۱ | ٤ | ۱۱ | ۱۲ | ۱۲ | ۱۱ | – | – | – | – | ۳/۳[a] | ۳/۲۱[a] |
| | ۲ | ۵ | ۱۰ | ۱۵ | ۱۱ | ۹ | – | – | – | – | ۳/۱۸[a] | |
| | ۳ | ٤ | ۹ | ۱۸ | ۱۳ | ٦ | – | – | – | – | ۳/۱٦[a] | |
| ۳ | ۱ | – | – | – | – | – | ۱۳ | ۲۱ | ۱۱ | ۵ | ۷/۱٦[b] | ۷/۱۹[b] |
| | ۲ | – | – | – | – | – | ۱۱ | ۲۱ | ۱۵ | ۳ | ۷/۲[b] | |
| | ۳ | – | – | – | – | – | ۱۵ | ۱٦ | ۱۲ | ۷ | ۷/۲۲[b] | |
| ٤ | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | ۰۰/۰۰ | ۰۰/۰۰ |

a,b: در هر ستون تفاوت بین میانگین‌هایی که حروف مشترک ندارند معنی‌دار می‌باشد ($p<$ ۰/۰۵).




**نمودار ۱**- مقایسه میانگین تیتر آنتی‌بادی در گروه‌های آزمایشی

گروه ۱= گروه واکسینه شده با واکسن Bursin-2
گروه ۲= گروه واکسینه شده با واکسن D-78
گروه ۳= گروه مبتلا به بیماری گامبورو
گروه ٤= شاهد

همان طوری‌که در جدول و نمودار ۱ مشاهده می‌شود، براساس آزمون ANOVA میانگین تیتر گروه ۱ و ۲ نسبت به همدیگر تفاوت معنی‌دار نشان نمی‌دهند ($p<$ ۰/۰۵). ولی میانگین تیتر هر یک از گروه‌های ۱ و ۲ در مقایسه با گروه ۳ به طور معنی‌دار کمتر می‌باشد یعنی افزایش تیتر آنتی‌بادی به کمک تست هماگلوتیناسیون غیرمستقیم در گله‌های مبتلا به بیماری گامبورو نسبت به تیتر حاصل از واکسن‌های Intermediate معنی‌دار می‌باشد ($p<$ ۰/۰۵). گروه ٤ به عنوان گروه شاهد فاقد تیتر آنتی‌بادی بر علیه گامبورو بوده است چرا که هیچ واکسنی دریافت نکرده و با ویروس فیلد درگیر نشده بود.

## بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه‌ای که توسط Haddad و همکارانش در سال ۱۹۹۷ انجام گرفت، مشخص گردید که واکسن‌های زندهٔ گامبرو از سویه‌های تخفیف حدت یافته ویروس تهیه می‌شوند که از لحاظ حدت با هم فرق می‌کنند. بر همین اساس، چهار گروه واکسن زنده وجود دارد. ۱- واکسن‌های زنده ملایم (mild) ، ۲- واکسن‌های با حدت متوسط (intermediate) ۳- واکسن‌های با حدت نسبتاً بالا (Intermediate plus) و ٤- واکسن‌های با حدت بالا (Hot). قدرت ایمنی‌زایی و بیماری‌زایی چهار گروه واکسن فوق با هم فرق می‌کند، به طوری که واکسن‌های ملایم ایمنی‌زایی و بیماری‌زایی کم و واکسن‌های با حدت بالا ایمنی‌زایی و بیماری‌زائی بالایی دارند (۲). در ایران اغلب از واکسن‌های زنده با حدت متوسط (Intermediate) استفاده می‌شود. در بررسی حاضر با توجه به این‌که واکسن‌های Bursin-2 و D-78 هر دو در گروه واکسن‌های با حدت متوسط(Intermediate) قرار دارند، لذا انتظار می‌رود ایمنی‌زایی مشابهی داشته باشند که نتایج این مطالعه این موضوع را تأیید می‌کند، به طوری که تیتر حاصل از دو نوع واکسن مذکور اختلاف معنی‌دار نشان نمی‌دهد ($p<$۰/۰۵).

Mcferran و همکارانش در سال ۱۹۸۰ در ایرلند شمالی، اولین کسانی بودند که وجود تنوع آنتی‌ژن در بین سویه‌های با منشأ اروپایی را گزارش کردند (٦). بعداً Jackwood و همکارانش در سال ۱۹۸۲ نیز در آمریکا یافته‌های مشابهی گزارش نمودند (٤).

Rosenberger و همکارانش در سال ۱۹۸٦، Saif و همکاران در سال ۱۹۸٤ ویروس‌های واریانت متعلق به سروتیپ I را توضیح دادند و مشخص نمودند که سویه‌های واکسنی مورد استفاده در آن موقع نتوانستند محافظت کامل در مقابل واریانت‌ها ایجاد کنند، یعنی تفاوت‌های آنتی‌ژنیکی در جدایه‌های مربوط به سروتیپ I به اثبات رسید (۹ و ۱۰).

با ظهور واریانت‌های جدید، واکسن‌های کلاسیک برای کنترل بیماری مؤثر نیستند (۳). تمامی یافته‌های فوق بر اهمیت هماگلوتیناسیون غیرمستقیم در خصوص تعیین تیتر آنتی‌بادی حاصله از واکسن‌های زنده دلالت می‌کند، چرا که در تست‌های تشخیصی به‌ویژه ELISA از آنتی‌ژن‌های خارجی استفاده می‌شود. با توجه به اینکه امکان ظهور واریانت در هر کشور وجود دارد، لذا در تعیین تیتر توسط تست هماگلوتیناسیون غیرمستقیم که به کمک آنتی‌ژن‌های داخلی انجام می‌پذیرد، تیترهای واقعی و مطمئن‌تری به‌دست می‌آید.

Hussain و همکاران در سال ۲۰۰۳ با استفاده از تست هماگلوتیناسیون غیرمستقیم (IHA) میزان آنتی‌بادی سرمی بر علیه ویروس بیماری گامبورو را در طیور گوشتی مشخص نمود. روش آزمایش نامبرده با روش استفاده شده در این مطالعه کاملاً مطابقت داشته و نتایج مشابهی حاصل گردید (۳).

تیتر $\log_{\frac{۴}{۳}}\left(\frac{۱}{۶۴}\right)$ را به عنوان تیتر حفاظتی در مقابل بیماری گامبورو معرفی کرده‌اند (۵). مطالعه حاضر، میانگین تیتر حاصل از واکسن Bursin-2 با تیتر هماگلوتیناسیون غیرمستقیم، ۳/۱۹ و میانگین تیتر حاصل از واکسن D-78 با همان تست ۳/۲۱ بوده است که با تیتر حفاظتی معرفی شده تفاوت داشته و کمتر می‌باشند. لذا با تجویز واکسن‌های فوق که هر دو از واکسن‌های Intermediate هستند، حفاظت کامل در مقابل بیماری گامبورو حاصل نخواهد شد. نتایج تست هماگلوتیناسیون غیرمستقیم در ۳ گله مبتلا به بیماری گامبورو مشابه بوده و میانگین تیتر آن‌ها در این تست ۷/۱۹ بوده است که تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های ۱ و ۲ نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$).

همچنین نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که می‌توان از آزمایش هماگلوتیناسیون غیرمستقیم برای تعیین تیتر آنتی‌بادی تولید شده علیه ویروس گامبورو استفاده نمود و از این جهت که اجرای آن آسان بوده و هزینه کمی دارد، دارای مزیت می‌باشد و روش مناسبی برای اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی اختصاصی علیه ویروس شایع در هر منطقه می‌باشد. چرا که آنتی‌ژن بکار رفته در این آزمایش دقیقاً از ویروس منطقه‌ای تهیه شده در حالی که آنتی‌ژن‌های مورد استفاده در روش‌های دیگر از جمله ELISA از ویروس‌های کشورهای اروپایی یا آمریکا می‌باشند.

## فهرست منابع


1. Aliev, A.S., Dzhavadov, B. and Leonteva, M.M. (1990): Indirect hemagglutination test for infectious bursal disease of fowls. Vet. Bull., 60: 47-67.
2. Haddad, E., Whitfihl, C., Avakian, A., Ricks, C., Andrews, P., Thomas, J. and Wakenell, P. (1997): Efficacy of a novel infectious bursal disease virus immune complex vaccine in broiler chickens. Avian Dis., 41: 882-889.
3. Hussain, I., Zahoor, M.A., Rasool, M.H., Shahia Mabmood, M., Mansoor, M.K. and Riaz, M.N. (2003): Detection of serum antibody levels against infectious bursal disease (TBD) virus using indirect hemagglutination (IHA) test in commercial broilers. International Journal of Poultry Science, 2(6): 442-445.
4. Jackwood, D.J., Saif, Y.M. and Hughes, J.H. (1982): Characteristics and serologic studies of two serotypes of infectious bursal disease virus in turkeys. Avain Dis., 26: 871-882.
5. Lukert, P.D. and Saif, Y.M. Infectious bursal disease virus. In: Saif, Y.M. (2003): Diseases of Poultry. 11th ed., Iowa State University Press, pp: 161-179.
6. McFerran, J.B., McNulty, M.S., McKillop, E.R., Conner, T.J., McCracken, R.M., Collins, D.S. and Allan, G.M. (1980): Isolation and serological studies with infectious bursal disease viruses from fowl, turkey and duck: Demonstration of second serotype. Avian Pathol., 9: 395-404.
7. Nakamura, T., Otaki, Y. and Nunoya, T. (1992): Immunosuppressive effect of a highly virulent infectious bursal disease virus isolated in Japan. Avian Dis., 36: 98 1-896.
8. Rahman, S.U., Ashfaque, M. and Javad, S. (1994): Infectious bursal disease virus antibody titration using indirect hemaggutination test. Pak. Vet. J., 14: 10 1-103.
9. Rosenberger, J.K. and Cloud, S.S. (1986): Isolation and characterization of variant infectious bursal disease viruses [abst]. J. Am. Vet. Med. Assoc., 189: 357.
10. Saif, Y.M. (1984): Infectious bursal disease virus types. Proc. 19th Nat. Meet. Poult. Health Condemn. Ocean City, MD, pp: 105-107.
11. Saif, Y.M. (1991): Immunosuppression induced by infectious bursal disease virus. Vet. Immunol. Immunopath., 30: 45-50.

*Vet. J. of Islamic Azad Uni. Tabriz Branch. 2,4:279-283, 2009*

# Comparison of antibody titer against the infectious bursal disease virus following the disease with that obtained from live intermediate vaccines using indirect hemagglutination (IHA) test in broiler chicks

**Feizi, A.[1*], Alamdari, M. [2], Yadollahi, A. [3], Azmode, R.[3]**

1-Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabirz, Iran
2-Department of Basic Science (Microbiology), Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia, Iran
3- Graduate of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran

*** *Corresponding author's email***:*Adel_Feizi@Yahoo.com*

**(Received:** 29 OCT 2008**, Accepted:** 20 APR 2009**)**

## Abstract

In this study, antibody titer obtained from the outbreak of the infection bursal disease (IBD) was compared with the titer obtained from live intermediate vaccines by indirect haemagglutination (IHA) test in broiler chicks. A total of 450 one day old Cobb chicks were divided into 3 groups each containing 150 chicks and were kept for 42 days in the same rearing conditions. Chicks in groups 1 and 2 received Bursin-2 and D-78 vaccines respectively via drinking water n days 14 and 21. The rest of the chicks were kept as the controls (group 4) and did not receive any vaccine against the IBD. Serum samples were collected from all birds 2 weeks after the second IBD vaccination. Additional 150 serum samples were also collected from 3 broiler flocks that were affected by IBD and had a history of vaccination by the previously mentioned method, two weeks after the last clinical sings were observed (group 3). Antibody titer of the samples against the IBD virus were determined by the IHA test and the results were evaluated using ANOVA and SPSS software. The mean antibody titer obtained from Bursin-2 and D-78 vaccines were 3.19 and 3.21 respectively which is less than the titer of 6 needed for protection against the disease. The antibody titer in affected flocks was 7.19. comparison of the mean titer of the two vaccines did not show any significant difference but there was significant difference between the titer obtained from each vaccine and that of the effected flock ($p$<0.05). The results indicated that the titer obtained from the vaccines the manner that they were employed did not reach protective levels and there is the possibility of disease. Also the efficacy of IHA test in determining antibody titer against the IBD virus was demonstrated.

**Keywords:** Gumboro, broiler chicken, IHA, vaccine