دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوكاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

من قبل الطالبة

غيداء محمد مظلوم

باشراف

م.م.حسن علي حماي

الإهداء

الى الشفاه التي اكثرت الدعاء لي كلما نطقت.....

إلى العيون التي رأت في خيرا كلما نظرت.....

إلى القلوب التي ازدادت في فخرا كلما نبضت.....

إلى اعز من في الوجود.....

إلى الوالدين الكريمين.....

غيداء

اقرار المشرف

اشهد ان اعداد هذه الدراسة (دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوكاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين) قد تم اعدادها من قبل الطالبة غيداء محمد مظلوم تحت اشرافي وهي جزء من متطلبات نيل درجة البكلوريوس بالطب والجراحة البيطرية.

المدرس المساعد
حسن علي حمادي
كلية الطب البيطري/ جامعة القادسية

اقرار رئاسة الفرع

نؤيد بأن الطالبة غيداء محمد مظلوم قد أكملت البحث (دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوكاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين) كجزء من متطلبات نيل درجة البكلوريوس في الطب والجراحة البيطرية.

مقررالمادة
مثنى هادي حسين

رئيس فرع الطب الباطني
مثنى هادي حسين

الخلاصة

أجريت هذه التجربة في البيت الحيواني / كلية الطب البيطري لدراسة تأثير استخدام مسحوق بذور الحبة السوداء Nigella Sativa Seeds مخلوطا مع العلف على الاستجابة المناعية للقاح النيوكاسل بعد اعطاءه مرة عن طريق ماء الشرب والمرة الاخرى عن طريق التقطير بالعين، تم جلب (75) فرخ دجاج لحم (Ross 308) بعمر يوم واحد غير مجنس من مفقس الكوثر في الدغاره وقسمت بشكل عشوائي الى خمسة مجاميع متساوية ، غذيت على عليقة متوازنة. وكانت المجاميع كالاتي: (G1) مجموعة السيطرة بدون اي اضافة ولم تلقح بلقاح النيوكاسل، (G2) لقحت بلقاح النيوكاسل عن طريق ماء الشرب وبدون معاملة العلف بالحبة السوداء، (G3) اعطيت مسحوق الحبة السوداء بجرعة 2.5% مع العلف ولقحت بلقاح نيوكاسل عن طريق ماء الشرب، (G4) اعطيت مسحوق الحبة السوداء بجرعة 2.5% مع العلف ولقحت بلقاح النيوكاسل عن طريق التقطير بالعين، (G5) لقحت بلقاح النيوكاسل عن طريق التقطير بالعين وبدون معاملة العلف بالحبة السوداء ولمدة خمسة اسابيع.

جمعت عينات الدم بعمر(1,20,30) وفصل السيرم لتحديد مستوى المناعة الامية عن طريق فحص الاليزا، ثم المناعة الناتجة عن التلقيح. اظهرت النتائج وجود فروق معنويه في مستوى المعيار المناعي بين المجاميع المختلفة ($p<0.05$) وكانت اعلى النتائج للمجموعتين (G3,G4) اللتين مزجت الحبة السوداء بنسبة 2.5% مع العلف.

وزنت الافراخ في نهاية كل اسبوع وسجلت الاوزان وتفوقت مجموعتي (G1,G2) على كل المجاميع عند مستوى احتمال $p<0.05$.

تمت مراقبة مجاميع التجربة ولم تسجل اي هلاكات وكانت حيوية الافراخ جيدة.

الرقم	الموضوع	الصفحة
	الخلاصة	
1	الفصل الاول.....المقدمة	2
2	الفصل الثاني.....استعراض المراجع	3
1-2	تعريف مرض النيوكاسل	3
2-2	المسبب المرضي	3
1-2-2	تصنيف الحمة	3
2-2-2	شكل الحمة وتركيبها	3
3-2	الخصائص البيولوجية والفيزيائية للحمة	4
1-3-2	القابلية على تلزين خلايا الدم الحمراء	4
2-3-2	خاصية تحرير الحمة عن سطح خلايا الدم الحمراء	4
3-3-2	خاصية امتزاز خلايا الدم الحمراء	4
4-3-2	خاصية التحلل الدموي	5
5-3-2	قابلية احداث البقع	5
6-3-2	خاصية انتاج الانترفيرون	5
4-2	المقاومة للعوامل الفيزياوية والكيمياوية	5
5-2	مدة الحضانة	5
6-2	الامراضية	5
7-2	أشكال المرض	6
1-7-2	شكل دويل	6
2-7-2	شكل بيج	6
3-7-2	شكل أسيكس	6
4-7-2	شكل بيوديت	6
5-7-2	شكل هينشر	6
6-7-2	الشكل اللاعرضي	6
8-2	ضراوة حمة مرض النيوكاسل	7
9-2	مؤشرات الضراوة	7
10-2	العلامات السريرية	7
11-2	الافات المرضية	8
12-2	التغيرات النسيجية	8
13-2	التشخيص	8
1-13-2	التشخيص الحقلي	8
2-13-2	التشخيص المختبري	9
1-2-13-2	عزل الحمة	9
2-2-13-2	تنمية الحمة	9
3-2-13-2	الاختبارات المصلية	9
1-3-2-13-2	اختبار التلازن الدموي	9
2-3-2-13-2	اختبار اثباط التلازن الدموي	9
3-3-2-13-2	تقنية الانزيم المناعي الممتز غير المباشر	10
4-3-2-13-2	اختبار التعادل المصلي	10
5-3-2-13-2	اختبار الاستشعاع المناعي	11
14-2	المناعة ضد مرض النيوكاسل	11
1-14-2	المناعة الفعالة	11

2-14-2	المناعة الخلوية	11
3-14-2	المناعة الخلطية	11
4-14-2	المناعة الموضعية	12
15-2	التمنيع	12
16-2	انواع اللقاحات	13
1-16-2	اللقاحات الحية المضعفة	13
2-16-2	سلبيات وايجابيات اللقاحات الحية المضعفة	13
3-16-2	اللقاحات المقتولة	14
4-16-2	ايجابيات وسلبيات اللقاحات المقتولة	14
17-2	طرائق التلقيح	14
1-17-2	طريقة التلقيح بوساطة الرش	14
2-17-2	طريقة التلقيح بالتقطير بالعين والمنخرين	15
3-17-2	طريقة التلقيح بماء الشرب	15
4-17-2	طريقة التلقيح بالحقن	16
3	الفصل الثالث.....المواد وطرائق العمل	17
1-3	تحضير حقل التربية	17
2-3	سحب عينات الدم	19
3-3	وزن الافراخ	19
4-3	حيوية الافراخ	19
5-3	التلقيح	19
1-5-3	التقطير بالعين	19
2-5-3	التلقيح عن طريق ماء الشرب	19
4	الفصل الرابع.....النتائج والمناقشة	21
5	الفصل الخامس.....الاستنتاجات والنصائح	24
6	الفصل السادس.....المصادر العربية والاجنبية	
6	المصادر العربية	25
6	المصادر الاجنبية	26

الرقم	الموضوع	الصفحة
1-3	نوع اللقاح وتاريخ التلقيح وطريقة الاعطاء حسب المجاميع	18
	التركيب الكيميائي لعلقتي البادئ والنهائية المستخدمة في التجربة	19
1-4	يوضح نتائج فحص اختبار الاليزا (ELISA)	21

2-4	معدل الزيادة الوزنية الاسبوعية	22

2 . قائمة الاشكال:

الرقم	الموضوع	الصفحة
1-2	يوضح التركيب التخطيطي لجزيئات فايروس مرض النيوكاسل	4
1-3	تصميم التجربة	18
2-3	بذور الحبة السوداء	20
3-3	شكل نبلت الحبة السوداء	20

اعتمدت المنتجات الطبيعية النباتية والاعشاب الطبية كمحفزات لنمو الطيور الداجنة بدلاً عن المضادات الحيوية في السنوات الأخيرة أذ أن هذه المنتجات تتميز بعدم ترسب متبقياتها في لحوم ومنتجات الدواجن وعدم نشوء المقاومة من قبل الاحياء المجهرية في جسم الطائر لهذه المنتجات من جراء الأستعمال المستمر لها في غذاء الطيور (Sogut, *et al* 2012) تعد الحبة السوداء(Nigella sativa) من اهم المنتجات التي تستعمل كأضافات علفية للدواجن وذلك لما تحويه من مركبات فعالة مثل النجلون (Nigellone) والكلوتاثيون (Glutathione) والثايموكوينوين (Thymoquinone) وجميع هذه المركبات هي مضادات اكسدة طبيعية تسهم في حماية انسجة الجسم من اضرار الاكسدة والجذور الحره والمواد الغريبة (Nagi ,*et al* 1999) . تتميز الحبة السوداء بتأثيرها الفعال في زيادة اعداد خلايا الدم الحمر في فروج اللحم بسبب احتوائها على العديد من العناصر المعدنية كالحديد والنحاس فضلاً على احتواءها على تراكيز عالية من الاحماض الدهنية الاساسية والدهون الفسفورية المهمة لبناء الجدار الخلوي لأنسجة الكائن الحي (العاني ، ١٩٩٨). فهي تحتوي على (0.5-1.6) من الاحماض الدهنية الطياره، وقلويدات وصابونين وستيرولات وكينين quinines اذ تستخدم في الطب التقليدي كمضاد التقلصات وكطاردات للطفيليات وكمطهرات ولعلاج التهابات المفاصل وكمشهي وفي حالات الشد العصبي وفي علاج الحبن والربو وحطاطات التهاب الجلد .(AL-Homidan *et al*., 2002) كما تساعد على تحسين الكفاءه الإنتاجية والمناعية للدواجن وخاصة فروج اللحم (العبيدي، ٢٠٠٥). ومن خلال تاثيرها الايجابي في الجهاز المناعي وتعزيز المناعة للحصول على افضل استجابة مناعية فضلا عن فعاليتها المضادة للميكروبات (Haq,*et al* 1995). كما تعمل بذور الحبة السوداء او مستخلصاتها كمضادات بكتيرية (WENK, 2003).

يعود نبات الحبة السوداء الى العائلة الشقائقية وهي عبارة عن نباتات عشبية وحولية متوسطة النمو ، وللنباتات اوراق مجزاة الى اجزاء دقيقة وازهارا بيضاء اللون مزرقة قليلا او نجمية الشكل (الخطيب،١٩٨٨) تمتلك بذورا سوداء اللون صغيرة الحجم هرمية الشكل خشنة الملمس لها رائحة عطرية مميزة وطعم لاذع وعند شطر البذرة الى جزأين نجد انها مجزأة (من الخارج الى الداخل) السطح الخارجي اسود اللون ثم يليه جزء ابيض ويمثل لب الحبة السوداء ويشمل معظم محتوياتها الداخلية والجزء هو رمادي اللون يقع بين الغلاف الخارجي واللب الاسود واللب الداخلي الأبيض (سامي، ١٩٩٣).

ان هذه الدراسة تهدف الى استعمال الحبة السوداء كاضافات علفية لرفع الاستجابة المناعية للدواجن لمقاومة الامراض الفتاكة مثل مرض النيوكاسل وللتقليل او الحد من استخدام الادوية والمضادات الحياتية المستعملة والتي لها الكثير من الاضرار على صحة الانسان كونها تترك متبقيات في المنتج النهائي للدواجن، وكذلك لتسجيل الزياده الوزنيه الاسبوعية.

1.2 تعريف مرض النيوكاسل

سجلت اول حالة خمج بهذا المرض عام (1927) في مقاطعة نيوكاسل في انكلترا (Alexander, 1992)، ويعرف على انه مرض حمي مهلك شديد العدوى يصيب جميع انواع الطيورالداجنة، وانواع عديدة من الطيورالبرية (Seal & King, 2005) ويعد الدجاج الاكثر استعداداً للخمج بالمرض واظهار العلامات السريرية (Maas *et al*, 2003)، ويتسبب المرض عن الخمج بحمة البارامكسو النمط المصلي الاول Paramyxo virus type 1 (Alexander,2001) وعند إصابته الطيور الداجنة يتسبب بحدوث التهاب للقناة التنفسية و الهضمية و/او الدماغ (Nelson , 1999) وعزلت عدة عتر لحمة مرض نيوكاسل، وصنفت حسب ضراوتها الى عتر ضارية، وهي عادة مهلكة وقد تصاحبها علامات تنفسية شديدة، (Huang *et al* , 2004)، وعتر متوسطة الضراوة التي تصاحبها علامات تنفسية بسيطة ونسبة هلاكات متوسطة ، وعتر ضعيفة الضراوة و تصاحبها علامات تنفسية بسيطة ، وعتر غير ضارية (Gallilli & Ben-Nathan, 1998) كما صنفت عتر الحمة حسب ميلها لخمج اجهزة الجسم المختلفة الى عتر احشائية وتنفسية وعصبية. وللمرض عدة اسماء:

1. مرض دويل Doyle Disease
2. مرض طاعون الدجاج الكاذب Pseudo fowl pest
3. nine day flu
4. Rani Khet disease
5. Avian Pneumo encephalitis
6. Pseudo Poultry Plauge
7. Pseudo dovogel - pest
8. Avian Distemper
9. Avian pest

(Alexander , 2003)

2.2 المسبب المرضي Etiology

1.2.2 تصنيف الحمة

صنفت الحمة المسببة لمرض نيوكاسل على انها أحد إفراد عائلة Paramyxovirdae العائدة الى ما فوق العائلة Monoegavirales ضمن تحت العائلة Paramyxovirina (Zhao & Peeters , 2003) والتي قسمت الى ثلاثة انماط اولية (Prototype) التي اشتملت على:-

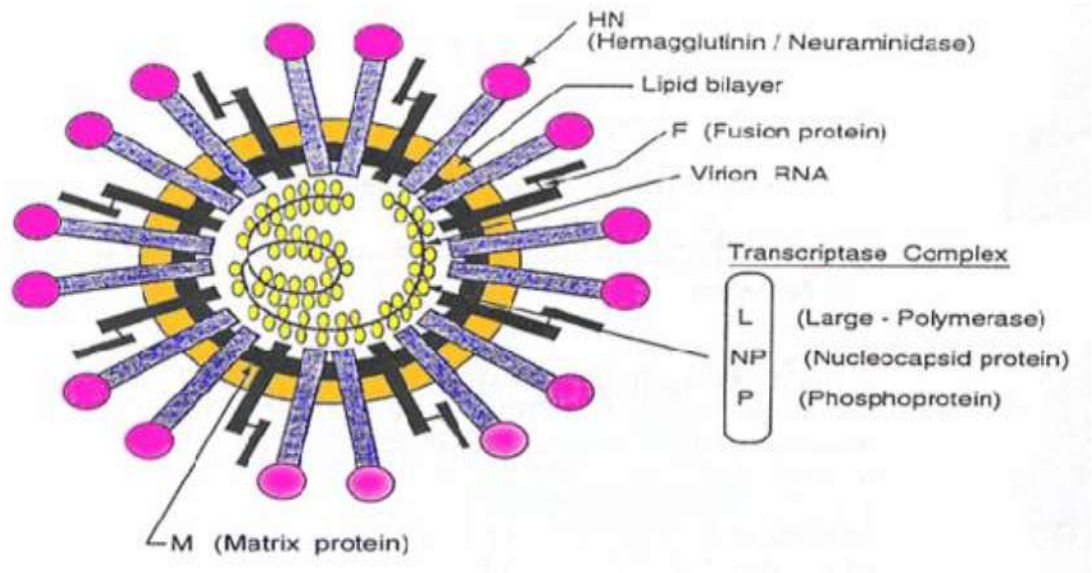
1. Morbilivirus.

.(Pnemo Virus) .2

(Alexander, 2000) (Paramyxo Virus) .3

2.2.2 شكل الحمة وتركيبها

تمتاز حمة مرض نيوكاسل بأشكالها المتغايرة Pelomorphic لكن الشكل الخيطي ، والكروي هما الاكثر شيوعاً ويتراوح قطر الحمة الناضج (Virion) من 100-500 نانوميتر تحتوي الحمة على المادة الوراثية (Genome) ، وهوعبارة عن شريط مفرد للحامض النووي الرايبي (RNA) وغير المقسم ويحاط هذاالحامض ببروتين مكونا ما يسمى بالمحفظة النووية (Neucleocapsid) وتكون ذات تناسق حلزوني Helical Capsid Symmetry (Oldoni *et al* , 2005)، وتحاط بغلاف بروتيني شحمي (Spradbrow, 2002) ،ويحتوي هذا الغلاف على بروتينات سكرية (Glycoprotein) سطحية الموقع فعاله تكون على شكل بروزات جانبية قصيرة على السطح أشبه بالاشواك (Spike) (Alexander, 2001)، احدهم هوالبروتين السكري المسؤول عن التصاق الحمة بمستقبل الخلية (Haemagglutinine & Nuraminidase- HN) ويعتقد ان له دور في الضراوة (Deleeuw *et al* ,2005)، اما البروتين السكري الاخر فهو بروتين الالتحام والمسمى (F- Protein)، وهوالمسؤول عن التحام الحمة بالخلية المضيفة وكذلك بروتين المحفظة النووية والبروتين البيني وبروتين التلازن الدموي(Ogasawara et al , 1998).



شكل رقم(2-1) يوضح التركيب التخطيطي لجزيئات فايروس مرض النيوكاسل.(Shnyrova et al., 2007)).

3.2 الخصائص البيولوجية والفيزيائية للحمة

1.3.2 القابلية على تلزين خلايا الدم الحمر

لعتر الحمة القابلية على تلزين خلايا الدم الحمر لكل البرمائيات وبعض اللبائن مثل الفئران، خنزير غينيا والانسان (Alexander, 2003) وتعرف خاصية التلازن بأنها عبارة عن التصاق الحمة بسطح خلايا الدم الحمر عن طريق المستقبلات الخاصة بها على سطحها. ويختلف المستضد الحمي الملزن للخلايا في مختلف العتر من حيث مقاومته لدرجة حرارة ،وكذلك قابليته لاحداث تلازن خلايا الدم لبعض انواع الثدييات ولكن هذه الاختلافات لاترتبط بعلاقة مباشرة مع شدة ضراوة عتر حمة مرض نيوكاسل المختلفة (Hanson ,1972).

2.3.2 خاصية تحرير الحمة عن سطح خلايا الدم الحمر

وتتم هذه الخاصية بتحطيم المستقبل الموجود على سطح الخلية بوساطة خميرة النيورامنيديز Neraminidase، وتسمى هذه الخاصية بالشطف Elution وتتأثر هذه الخاصية بانخفاض درجة الحرارة دون (37) درجة مئوية ، ومدى ضراوة العترة (Ezeibe ,2005).

3.3.2 خاصية امتزاز خلايا الدم الحمر Haemadsorption

وهي عبارة عن التصاق خلايا الحمر على سطح الخلايا المخمجة بالحمة، وان سرعة امتزاز الخلايا الحمر بالخلايا تعتمد على عتر الحمة، فالخلايا المخمجة بالعتر ضعيفة الضراوة تستغرق وقتاً اطول للامتزاز عما تستغرقه الخلايا المخمجة بالعتر الضارية، ويعتقد ان سبب الاختلاف يعود الى كمية الانتجين المنتج من مختلف عتر الحمة الموجود على جدران الخلايا المخمجة (OIE,2005).

4.3.2 خاصية التحلل الدموي Haemolysis

لحمة مرض نيوكاسل القابلية على حل خلايا الدم الحمر التي تلزنت، ويعود سبب التحلل الى تكسر جدران الخلايا الحمر، وتحرر الهيموكلوبين(Alexander, 1997).

5.3.2- قابلية احداث البقع Plaque Formation

للحمة القابلية على احداث انواع من البقع على اوساط الزرع النسيجي، وخلايا كلية اجنة الدجاج وتستخدم لتوصيف ضراوة الحمة، حيث ان قابلية حمة مرض نيوكاسل لاحداث البقع تتناسب مع شدة ضراوته، فالعتر الضارية تنتج انواعاً من البقع مختلفة الاحجام على خلايا الزرع النسيجي بينما العتر ضعيفة الضراوة ليست لها هذه القابلية (Hofstad *et al* , 1978).

6.3.2 خاصية انتاج الانترفيرون

وجد ان لحمات مرض نيوكاسل الحية القابلية على تحفيز الخلايا على انتاج الانترفيرون، ولكن هناك فروقات في كمية الانترفيرون المنتج حسب العتر، فالعتر الضارية تساعد على انتاج كميات كبيرة، اما العتر الضعيفة فانها تحفز الجسم على انتاج كميات اقل (Jacob, *et al* 2001).

4.2 – المقاومة للعوامل الفيزيائية والكيميائية:-

ان درجة الحرارة تفقد خمجية الفايروس بصورة كلية عند(100) درجة مئوية خلال دقيقة ، وعند(56) درجة مئوية ولمدة (5-6) ساعات تفقد خاصية التمنيع (Immunogencity)، وخاصية التلازن، وكذلك التعرض للاشعة فوق البنفسجية، الاس الحامضي(pH) ،عملية الاكسدة. اما العوامل الكيمياوية مثل الفورمالين، الفينول، بيتا- بروبيولاكتون فلها القابلية على أن تدمر خمجية الحمة مع المحافظة على خاصية التمنيع ضمن تراكيز معينة (Zee , 2004). للحمة في جثث الطيور المخمجة والمجمدة القابلية على البقاء لعدة سنوات وكذلك لها القابلية على المقاومة في الغبار لمدة تصل الى (252) يوما (Cidrap, 2005).

5.2 مدة الحضانة Incubation Period

تكون مدة الحضانة بعد التعرض لحمة مرض نيوكاسل بين(2-15) يوماً أو أكثر، وبمعدل(5-6) ايامً (Wissman, 2002) وهناك عدة عوامل تؤثر على طول، أو قصر هذه المدة منها عمر الطير، مدى ضراوة العترة، الجرعة، طريقة دخول الحمة، الحالة المناعية للطير، التعرض المسبق للحمة (Jordan, 1990).

6.2 الامراضية Pathogenicity

تقاس الامراضية بقابلية الحمة على احداث الخمج كالعلامات العصبية مثل الشلل، والرعشة، والتواء الرقبة والعلامات التنفسية التي تكون اما واضحة او قليلة (Alexander, 2000)،وتختلف العتر بميلها لخمج الانسجة المختلفة لكن معظمها عزلت من القصبة الهوائية، والمجمع فبعض العتر غير الضارية تصيب الامعاء فقط، بينما الضارية تسبب خمج الجهاز التنفسي خمج شديد ويحدث الخمج عن طريق دخول الحمة الجهاز الهضمي من خلال تناول الطير المواد الملوثة وبجرعة عالية من الحمة، اوعن طريق الجهاز التنفسي وتكفي جرعة قليلة من الحمة بهذه الطريق لاحداث المرض، ويحصل لها تكاثر في منطقة دخولها ، ثم تصل الى جهاز الدوران خلال 24 ساعة وتمتاز الحمة بميلها تجاه خلايا الدم الحمر التي تسمح لها بالانتشار خلال جسم الطير من خلال جهاز الدوران (Grasso, 2003) ، ووجود الحمة بالدم يؤدي الى حدوث Viremia ، ثم الانتشار الى معظم الاعضاء الداخلية ثم تتكاثر في الاعضاء المفضلة، وهي الجهاز الشبكي البطاني وخاصة الطحال (Alexander , 2003)، اذ يرتفع معيار الحمة في هذه الانسجة ويصل اعلى معيار لها بعد(3- 4) يوماً ومن ثم تعود الحمة الى الدم مرة ثانية، ولكن بتركيز اعلى مسببة المرحلة الثانية من الـ Viremia التي يصاحبها ظهور العلامات السريرية والتغيرات المرضية في الاحشاء الداخلية (Fenneer et al ,1993)، اما الاستجابة الخلطية فتبدأ حال تحفيز الخلايا اللمفية، ولكنها لا تظهر قبل اليوم الرابع وغالباً تلاحظ بعد اليوم السابع (Parede & Young , 1990)، وتتميز العتر طفيفة الضراوة بأن حجمها المعياري (Virus Titer) يكون عالي في منطقة دخول الحمة عكس العتر الضارية التي تسبب تغيرات كثيرة عند تكاثرها في الاحشاء الداخلية، كما ان العتر الضارية لها القدرة على تحطيم الحاجز الدموي الدماغي ، والمرور خلاله بسبب تحطيم الخلايا المبطنة للاوعية الدموية ، وخلايا المتن (Paranchymal Cells) بينما العتر المتوسطة والضعيفة الضراوة ليس لها القدرة على تحطيم هذا الحاجز ويسبب التصاق الحمة تلف بطانة الاوعية الدموية ، مما يؤدي الى صعوبة التنفس نتيجة التلف لمركز التنفس وحدوث النزف الحبري وأحتقان الرئتين (Ritchie & Harrison , 2004).

7.2 اشكال المرض

تصنف اشكال مرض نيوكاسل اعتماداً على العلامات السريرية والتغيرات المرضية العيانية، والعتر المسببة للمرض الى (6) أشكال (Alexander,1997) هي:

1.7.2 شكل دويل Doyles Form

يسمى ايضاً بالشكل الاسيوي (Asiatic Form)، أو مرض نيوكاسل الاحشائي الذي تسببه عتر ضارية لها ميل لخمج الاحشاء الداخلية (Viscerotropic Velogenic Strain) مثل عترة (Herts)، ويصيب الطيور بجميع الاعمار مسبباً هلاكات عالية في الافراخ غير الملقحة ويتميز هذا الشكل بوجود تقرحات نزفية في المعدة الحقيقية والقانصة والجريبات اللمفية في الامعاء ومنطقة اللوز الاعورية (Alexander,1997).

2.7.2 شكل بيج Beachs Form

تسبب هذا الشكل عتر ضارية لها ميل لخمج الجهازالعصبيNeurotropic Velogenic Strains مثل عتر Milano, texas GB، ويمتاز هذا الشكل بكونه من النوع الحاد الذي يصيب الطيور بجميع الاعمار ويتسبب بظهور علامات تنفسية وعصبية (Pneumoencephalitis) (Alexander,1997) ومن اهم العلامات العصبية المميزة لهذا الشكل التواء الرقبة ، وارتجاف العضلات مع شلل كلي او جزئي للاجنحة او الارجل ، ويمتاز ايضاً بعدم وجود تقرحات نزفية في الجهاز الهضمي (Whittle , 2004).

3.7.2 شكل اسيكس Essex Form: ويمتاز هذا الشكل بوجود الخمج في الجهاز التنفسي بصورة رئيسة ، وقد يتسبب بهلاكات تصل الى اكثر من 90% في الطيور المخمجة (Alexander &Allan , 1974).

4.7.2 شكل بيوديت Beaudettes Form

وتسببه عتر متوسطة الضراوة مثل عترة (Roakin,Komarov) ويمتاز بظهور علامات تنفسية في جميع الاعمار تليها علامات عصبية لاسيما في الافراخ صغيرة الاعمار (Bohara, 1997) ، ولا يسبب هذا الشكل هلاكات عالية في الدجاج البالغ الا انه قد تصل الى 50% في حالة وجود اخماج ثانوية، أما اهم التغيرات المرضية فهي احتقان الاكياس الهوائية وعتامتها ، وقد تحتوي على نضح اصفر، إحتقان الرغامي (Alexander , 2003).

5.7.2 شكل هيشنر Hitchiners Form

تسببه عتر ضعيفة الضراوة Lentogenic Strain التي تستخدم في انتاج اللقاحات الحية المضعفة مثل F,B_1,Lasota ، ويمتاز بوجود علامات تنفسية طفيفة في الافراخ صغيرة العمر ، ولا تلاحظ أية علامات عصبية او هضمية انما يتسبب بهبوط مفاجئ في انتاج البيض ومن اهم التغيرات المرضية التهاب الرغامي الخفيف، والتهاب الاكياس الهوائية (King , 2005).

6.7.2 الشكل اللاعرضي Asymptomatic Form يتميز بعدم ظهور علامات سريرية على الافراخ التي تتعرض الى بعض العتر الضعيفة ويمكن الكشف عن الخمج بهذا الشكل بواسطة عزل الحمة ، او الكشف عن الاضداد الخاصة في مصل الافراخ (Alexander, 2003).

8.2 ضراوة حمة مرض نيوكاسل

تظهر عتر الحمة اختلافات واسعة في الضراوة، كذلك تتميز بوجود اختلافات مستضدية AntigenicVariation (Wissman,2002) وتقسم عتر الحمة حسب شدة المرض الى:-

1-عتر ضارية (Velogenic Strains).

2-عتر متوسطة الضراوة (Mesogenic Strains).

3-عتر طفيفة الضراوة (Lentogenic Strains).

وتختلف العتر بميلها لخمج اجهزة الجسم المختلفة فمنها من يصيب الاحشاء الداخلية (Viscerotropic) ، واخرى لها ميل لخمج الجهاز العصبي (Neurotropic) بينما تميل عتر اخرى لخمج الجهاز التنفسي Pneumotropic (Olav *et al* , 2003).

9.2 مؤشرات الضراوة Pathogencity Indexes

عدة مؤشرات نحدد من خلالها ضراوة عتر حمة نيوكاسل (Huang *et al* ,2003) وهي:-

1- متوسط الوقت اللازم لقتل اجنة الدجاج Mean Death Time

يحقن البيض المجنن بعمر (9-11) يوماً، وجد ان متوسط الوقت اللازم لقتل الاجنة اقل من (60) ساعة للعتر الضارية، (60-90) ساعة للعتر متوسطة الضراوة واكثر من (90) ساعة للعتر ضعيفة الضراوة (Grimes , 2002).

2- المؤشر المرضي عند الحقن بالدماغ Intracerebral Pathogenicity Index تحقن افراخ بعمر يوم واحد بالدماغ وتُراقب لمدة (7- 10) ايام وتعطى علامتان للفرخ الهالك ، وعلامة للفرخ الذي تظهر عليه علامات المرض وصفر للفرخ الذي لا تظهرعليه علامات المرض خلال (10) ايام من تاريخ الحقن وان قيمة المؤشر المرضي الخاص عند الحقن بالدماغ للعتر الضارية تتراوح (1.5- 2) وللعتر متوسطة الضراوة (1-1.5) واما للضعيفة الضراوة من (0.2-0.5) في حين تكون للعتر المسببة للشكل غير الظاهري من(0.0-0.2). (Alexander ,1998).

3- المؤشر المرضي عند الحقن بالوريد Intra Venus Pathogenicity Index

تحقن افراخ بعمر (4-6) أسابيع بالوريد ، وتراقب العلامات السريرية و تعطى ثلاث علامات للفرخ الهالك ، وعلامتان للفرخ الذي تظهر عليه علامات سريرية، وصفر للفرخ الذي لا تظهر عليه علامات مرضية (Spradbrow , 1998).

4- المؤشر عند الحقن في المجمع Intra Cloacal Pathogenicity Index يجرى مسح للغشاء المخاطي المبطن للمجمع بالعتر الضارية لاربعة افراخ يبلغ عمرها (6-8) أسابيع وتراقب لمدة (10) ايام، وتصنف العترة على انها ضارية اذا أظهرت الافراخ العلامات السريرية ثم الهلاك وتعطى (4) علامات، في حالة وجود خزب في الرأس ، والعنق ونزف في منطقة القصبات مع تنخر في الأمعاء (3) علامات، و (2) علامات في حالة وجود علامات مميزة في منطقة المجمع، وتعد العترة من

النوع الضاري الاحشائي اذا اظهر احد الافراخ الاربعة (4) علامات او اثنين من الافراخ اعطت (2) أو (3) علامات (Alexander, 1998).

10.2 العلامات السريرية Clinical Signs

تشمل العلامات السريرية العلامات التنفسية، والهضمية والعصبية. أما العلامات السريرية التنفسية فتتمثل بصعوبة التنفس، والعطاس، والحشرجة، ونزول الافرازات من المنخرين (Nasal Discharge)، وذمة في منطقة الرأس ، وحول العينين ، وقد يحدث الهلاك بسبب فشل التنفس (Whittle,2004) ، ومن العلامات الهضمية الاسهال الاخضر الذي قد يصاحبه دم في حال الخمج بالعترة الاحشائية الضارية التي تسبب التهاب القناة الهضمية (Gardner,2003) ، وتشمل العلامات العصبية على التأرجح في الحركة ، وأرتجاف العضلات، وشلل الارجل واحياناً الاجنحة. اما التواء الرقبة فيظهر في حال اذا طالت مدة المرض ، وقد يحدث الهلاك سريعاً بعد (1-3) ايام من ظهور العلامات السريرية (Grasso, 2003) وتتسبب العتر الضارية بظهور المرض بصورة مفاجئة، وحدوث نسبة هلاكات عالية قد تصل الى 90% أو اكثر والطيور التي تظهر علامات عصبية ولم تنفق نادراً ما تشفى وتبقى مشلولة (Spradbrow, 2002).

أما العتر متوسطة الضراوة فإنها تتسبب بحدوث علامات تنفسية في الطيور صغيرة العمر، اما الخمج في الطيور البالغة فإنه يؤدي الى انخفاض حاد في انتاج البيض مع إحتمال وجود علامات تنفسية ونادراً ما تلاحظ علامات عصبية، وتكون نسبة الهلاكات قليلة، وتسبب العتر ضعيفة الضراوة بظهور علامات تنفسية بسيطة، وشديدة في الطيور الحساسة للخمج خاصة في حالة الخمج بالعتر الاكثر إمراضية مثل عترة لاسوتا بالاضافة الى وجود اخماج ثانوية بكتيرية مثل عصيات القولون *E.coli*, والباستوريلا *Pasteurella* اوالخمج بالمايكوبلازما وعادة نسبة الهلاكات قليلة ، او نادرة (King *et al* , 2005).

2. 11 الآفات المرضية Gross Lession

يعتمد ظهور وشدة الافات المرضية التي تسببها الحمة على الحالة المناعية للطير، ونوع العترة، وعمر الطير، وطريقة دخول الحمة وجرعتها(Spradbrow,2002)، وتتمثل الافات المرضية في حالة العلامات التنفسية بإحتقان ونزف في القصبة الهوائية ، والممرات التنفسية ، والحنجرة وقد يلاحظ تثخن الاكياس الهوائية مع أحتواءها في بعض الاحيان على نضح مصلي ، أو متجبن (Hooper *et al* , 1999) أما الافات المرضية في القناة الهضمية فتتمثل بالافات النزفية ذات العلاقة بتنخر جدران الامعاء كذلك الافات النزفية في مخاطية المعدة الغدية، القانصة، بقع نخرية على الكبد والطحال (OIE,2005)، ولا تلاحظ آفات عيانية في الجهاز العصبي المركزي للطيور المخمجة وعادة تكون العتر في العراق من النوع العصبي الاحشائي ، وتسبب تقرحات نزفية في الجهاز الهضمي مثل عترة AG68 (Husain ، 1980).

2 .12 التغيرات النسيجية Histopathology

لا توجد آفة نسيجية مميزة خاصة لتفريق مرض نيوكاسل عن بقية المسببات المرضية المشابهة له (No Pathognomic Microscopic Lesion) ، وتختلف الآفات حسب ضراوة العترة لكن من أهم التغيرات النسيجية التي يمكن مشاهدتها في الجهاز الهضمي هي نزف، وتنخر، ووذمه (Oedema) في جدار الأمعاء في التجمعات اللمفية لاسيما لطخات باير(Payers Patches) ، واللوز الاعورية (Cecal

Tonsils) وحدوث تنكس كامل لها وإستبدالها تدريجياً بمادة الليفين كما يمكن مشاهدة نزف حبري(Petechia Bleeding) وكدمات صغيرة (Small Ecchymosis) ، وبعض الاحيان تقرحات في مخاطية المعدة الحقيقية وتجمعات لمفية حول فتحات الغدد المخاطية (Mucous gland) ، وحدوث نخر في النسيج الغدي تحت الظهاري وتجمع الخلايا اللمفية أسفل الظهارة (Steneroden et al , 2004).

وفي الجهاز التنفسي لاسيما الجزء العلوي ، يلاحظ تغيرات نسيجية شديدة متمثلة بأحتقان وأحياناً نزف في المنطقة المخاطية للقصبة الهوائية والمنطقة تحت المخاطية ووجود الوذمة بينها ، وتكوين الخلايا الالتهابية في الطبقة تحت المخاطية للقصبة الهوائية، الرئتين والاكياس الهوائية (Nakamura *et al* , 2000) هذا بالاضافة الى انتشار البؤر المتنخرة في أعضاء مختلفة مثل القلب، والرئتين، والكبد، والبنكرياس، والمرارة والخلايا الشبكية المبطنة والخلايا اللمفية للطحال ، وجراب فابريشيا وغدة التوثة(thymus) (OIE ,2005).

13.2 التشخيص Diagnosis

1.13.2 التشخيص الحقلي Field Diagnosis

يشخص الخمج بحمة مرض نيوكاسل حقلياً اعتماداً تاريخ الحالة المرضية ، والعلامات السريرية التي تعتمد شدتها على شكل المرض ،وضراوة الحمة بالاضافة الى المستوى المناعي للافراخ وقت تعرضها للخمج، ومن ابرز العلامات السريرية في الافراخ غير المحصنة او التي حصانتها غير كافية للحماية هي نسبة الهلاكات العالية ، وسرعة انتشار المرض في قطيع الافراخ ، والخمول ، والاسهال المائي المخضر، والعلامات التنفسية كصعوبة التنفس، والافرازات المخاطية من المنخرين، واحتقان الجفون، العلامات العصبية كالتواء الرقبه، وشلل الاطراف والاجنحة (Flensburg , 2001) ومن التغيرات المرضية التي يمكن عدُّها شائعة عند خمج الافراخ بالحمة احتقان القصبات الهوائية او حدوث نزف شديد، نزوفات في المعدة الحقيقية، الامعاء.

(Alexander *et al*, 2004) وبالرغم من ان تشخيص الحقلي يعطي مؤشراً قوياً على الخمج بمرض نيوكاسل الا انه لا يمكن الاعتماد عليه بصورة كلية لوجود امراض عديدة تعطي علامات مشابهة مثل الخمج بانفلونزا الطيور،التهاب القصبات المعدي وغيرها (Ausvetplan ,2002).

2.13.2 التشخيص المختبري

1.2.13.2 عزل الحمة Virus Isolation

تتم عملية العزل باخذ مسحات(Swab)من الرغامي، فتحة المجمع، او الفضلات للطيور الحية المخمجة لان الحمة تتكاثر بالدرجة الاساسية في القناة الهضمية والتنفسية. اما بالنسبة للعينات المأخوذة من الطيور الهالكة فيشترط الحصول عليها من الطيور الهالكة حديثاً واعتماداً على العلامات السريرية التي اظهرتها قبل هلاكها وتشتمل على الرغامي ، الرئتين في حالة وجود علامات تنفسية بالاضافة الى الكبد والطحال واما في ظهور علامات عصبية كالتواء الرقبة فياخذ الدماغ لغرض العزل، وتجمع العينات في المراحل المبكرة للمرض (Alexander, 2003).

2.2.13.2 تنمية الحمة Virus Culture

تستخدم لهذا الغرض خلايا الزرع النسيجي بانواعها واجنة بيض الدجاج النامية ، وتعد الارومات الليفية لاجنة الدجاج Chicken embryo Fibroblast هي اكثر خلايا الزرع النسيجي استخداماً، وتتميز العتر الضارية والمتوسطة الضراوة بسهولة النمو على خلايا الزرع النسيجي بدون أي اضافات عكس الضعيفة، تحقن اجنة الدجاج بعمر (9-11) يوما ويتاثر هلاك الاجنة بكمية الاضداد الامومية الموجودة في كيس المح، وتستغرق عملية العزل والتنميته للحمة من (3-5) ايام او عدة اسابيع، (Alexander,1998) .

3.2.13.2 الاختبارات المصلية:-

1.3.2.13.2. اختبار التلازن الدموي (HA) Haemagglutintion Test

بعض المسببات المرضية لها القابلية على تلزين خلايا الدم الحمر للطيور وبعض اللبائن، ومنهم حمة مرض نيوكاسل، وتعد هذه الخاصية هي أساس فحص اختبار اثباط التلازن (Yong *et al*,2002). تزداد سرعة رؤية تلازن خلايا الدم الحمر في حالة استعمال المادة المخففة التي تحتوي على الكهارل مثل كلوريد الصوديوم، وللحرارة ايضاً تأثير على سرعة التلازن للخلايا الدموية الحمر وبسبب فعالية النيورا منيديز يحصل شطف للخلايا المتلزنة، لذلك ففعالية التلازن (HA) عادةً تقاس بحضن الطبق بـ (+4)°م لتثبيط فعالية الانزيم، وتكون قراءة النتيجة بحساب أعلى تخفيف للمستضد يعطي تلازناً كاملاً في حفرطبق الاختبار(Chandra, 2001).

2.3.2.13.2. اختبار اثباط التلازن الدموي (HI) Haemagglutination Inhibition

اختبار سريع وبسيط وغير مكلف، ويستعمل في تشخيص الخمج بحمة مرض نيوكاسل وقياس الاستجابة المناعية بعد التلقيح، ونادرا ما تشخص الاضداد بهذا الاختبار قبل اليوم السابع، ويستخدم لتفريق الخمج بالنيوكاسل عن بقية المسببات التي تلزن خلايا الدم الحمر مثل حمة انفلونزا الطيور ،حمة مرض التهاب القصبات المعدي، والمايكوبلازما (Steneroden et al , 2004) ويعتمد الاختبار على الاضداد في مصل الطيور والتي تمنع حمة مرض نيوكاسل من تلزين خلايا الدم الحمر (Bozorghmehrifardl & mayahi ,2000) كما ان هناك عوامل تؤثرعلى معيار الاضداد المقاسة مثل عترة الحمة، ونوع الطيور، وبرنامج التلقيح، وجرعة اللقاح، وطريقة دخول الحمة و يكون معيارالاضداد بين (2^4 –2^6) للطيور الملقحة باللقاح الحي المفرد و (2^9 – 2^{11}) اذا استخدم اكثر من لقاح (Jordan, 1990) ويعطي الاختبار نسبة خطأ قليلة بسبب الـ (Cross Reaction) بين عتر حمة مرض نيوكاسل، والطرائق المستخدمة هي طريقة ألفا (α) التي تتمثل بتخفيف الحمة تخفيفا ثنائيا ثم إضافة كمية معلومة وثابتة من مصل مرجعي ضد مرض نيوكاسل (OIE, 2005) ، أما طريقة بيتا (β) وهي الطريقة الأكثر استعمالا من طريقة ألفا ، وتتضمن تخفيف المصل تخفيفا ثنائيا ، ومن ثم إضافة كمية معلومة ، وثابتة من الحمة (Desousa *et al*, 2000) وإن نتيجة الاختبار تستخدم كدليلاً للحالة المناعية للطيور ويعد المستوى المناعي جيداً اذا كان معيار أثباط التلازن (2^4) ، أو أكثر عند أستخدام (4) وحدات تلازنية (HA) أما أقل معيار مسجل قد يوفر الحماية من العتر الضارية فهو (2^3) (Abdalla *et al*, 1999).

3.3.2.13.2. تقنيــة الانـزيم المنـاعي الممتـز غيـر المباشر Indirect enzyme- Linkage Immunosorbant Assay ELISA

يعد هذا الاختبار ذو حساسية عالية مقارنة بالفحوصات الأخرى، ويتميز بيسر الإنجاز وسرعته (Tabidi *et al*, 2004)، ويميز الخمج بحمة نيوكاسل عن بقية الحمات مثل التهاب القصبات الخمجي(IB) ، الكمبورو(IBD) وكذلك الحمات اللقاحية، وبالاضافة الى حساسية الاختبار العالية في قياس انواع مختلفة من الاضداد وتكون كمية المصل المستخدمة قليلة جداً، وتسجل القراءة بوساطة جهاز الحاسوب، (OIE,2005) ويعد الاختبار اكثر ملائمة من اختبار اثباط التلازن لاسيما عند الكشف عن اضداد الأمراض الأخرى (Kho *et al*, 2002)، لكن من الناحية الاقتصادية فهو اكثر كلفة Dwinger , (2000) ، ومن سلبياته ايضا عدم إمكانية تطبيقه مالم يستعمل مضاد النوع المعني المرتبط بالانزيم (Anti Species Conjugates) بدلاً من مضاد أمصال الدجاج.(Desousa *et al* , 2000) ، ومن خلال المعيارالمسجل بهذا الاختبار لا يمكن التفريق بين الاستجابة المناعية للتلقيح والخمج الحقلي بالحمة وتتلخص فكرة الفحص وفقا لوصف الباحث (Synder *et al*, 1983) بارتباط المستضد مع الاضداد الموجودة في المصل المراد الكشف عنه ، وبوجود أنزيم Peroxidase المرتبط بأضداد متخصصة ضد الأضداد الخاصة بالحمة ، وبعد إتمام الارتباط تضاف المادة الحليلة للانزيم ويدل على حدوث الارتباط بظهور لون مميز بعد إضافة المحلول الموقف (Stop Solution)، وتعتمد شدة اللون على كمية الاضداد الموجودة في المصل المراد معايرته (Tabidi *et al*, 2004) ، وتسجل النتيجة إعتماداً على شدة امتصاص الضوء بجهاز المطياف مقدرة بما يسمى بقيمة الكثافة الضوئية (O.D) Optical Density Value التي تدل في حالة عدم وجود تغير باللون إذا كانت القراءة (0) على عدم وجود اضداد يستطيع الاختبار قياسها ، أو يحتسب المعيار (Titer) بالاعتماد على القراءة المعدة بجهاز القراءة الخاص بفحص الاليزا (Tabidi *et al*, 2004).

4.3.2.13.2. اختبار التعادل المصلي

يستخدم الاختبار لتأكيد تشخيص الحمة ، وتفريقها عن بقية الحمات لكن من مساوئه تكاليفه الباهضة ، والوقت الذي يستغرقه (Herenda *et al* , 2000) ، وفكرة الاختبار تتلخص باضافة المصل الحاوي على الاضداد الى العالق الحاوي على الحمة، ويشترط ان يكون المصل معقماً (Sterile)، وقد عُرِضَ الى (56) مْ لمدة (30) دقيقة للتخلص من مثبطات الحمة غير المتخصصة الحساسة للحرارة Specific (Heat Laible Non Virus – Inhibitory Substance). (Alexander,1998). اما الحمة المستخدمة فيجب ان تكون ذات معيار حجمي عالٍ ومطبعة على خلايا الزرع النسيجي بالاضافة الى خلوها من الملوثات. بعد ذلك يوضع المزيج على الوسط الزرعي النسيجي وتعمل الاضداد المعادلة للحمة على منعها من احداث التغيرات المرضية الخلوية وتقارن النتائج مع الاوساط الزرعية النسيجية الحاوية على العالق الحاوي على الحمة مع المصل الخالي من الاضداد المعادلة له (Herenda *et al* , 2000)، ومن الممكن استخدام اجنة بيض الدجاج لاجراء الاختبار. وتستخدم طريقتان لاجراء الاختبار .

1. طريقة الفا (α - Neutralization Prucedure)

يستخدم مصل ثابت ، وتكون الحمة هي المتغير (المخفف) .

2.طريقة بيتا (β - Neutralization Prucedure)

تستخدم حمة معروفة ذات معيار عال يقدر بـ (100) وحدة من الجرعة المخمجة لـ(50%) من خلايا الزرع النسيجي، او اجنة بيض الدجاج ، ويكون المصل هـو المخفف (Alexander, 1998) .

5.3.2.13.2. إختبار الاستشعاع المناعي Fluorescent Antibody Test:-

يعد هذا الاختبار اكثر خصوصية في تشخيص الخمج بالحمة لأعطاءه نتائج في وقت أسرع من طريقة عزل الحمة ، ويمكن الحصول على صورة أكثر وضوحاً عن المناعة، بالاضافة الى إستخدمه لدراسة الامراضية. ويمكن الكشف عن مكونات الحمة في السايتوبلازم وتميزها عن أي حمة في مقاطع الزرع النسيجي الرقيقة حيث تعلم الاضداد التي ترتبط مع المستضد باستخدام صبغات مثل الفلورسين وتفحص باستخدام مجهر التألق المناعي الذي يستخدم فيه الاشعة فوق البنفسجية، وهناك العديد من البحوث توصي بإعتماده في المناطق الموبؤة لكن مع ذلك فإن هذا الاختبار غير شائع الاستخدام بسبب الكلفة العالية، الجهد (Grimes ,2002).

14.2 المناعة ضد مرض نيوكاسل (Immunity)

1.14.2 المناعة الفعالة Passive Immunity

وهي المناعة التي ليس لجسم الطير أي دور في تكوينها بل يكتسبها جاهزة اما مباشرة من الامهات (Maternal Immunity)، او عن طريق الحقن. وتختلف عن المناعة المنفعلة التي يولدها الجسم ضد أي مستضد، كما يختلف مستوى الاضداد المكتسبة من قطيع لاخر، وبين الافراخ لنفس القطيع اعتمادا على حالة الامهات المناعية (Grimes ,2002) ،وتكون كمية الاضداد في الافراخ بعمر يوم واحد معادلة لكمية الاضداد في الامهات ، ومن ثم تبدأ تدريجيا بالانخفاض بعد (2-3) ايام ويكون الانخفاض بمقدار لوغاريتم واحد ، كل اربعة ايام ونصف وحتى تتلاشى بعمر (3) اسابيع أذا كانت الامهات ملقحة باللقاح الحي ، واكثر من (42) يوم إذا كانت الامهات ملقحة باللقاح المبطل، اومخمجة بالنيوكاسل(Chandra *et al* , 2001) ومن فوائد الاضداد الامومية هي انها تعمل على تقليل التفاعلات الجانبية عند إجراء التلقيح بعمر مبكر (Butcher& Miles , 2003).

2.14.2 المناعة الخلوية (Cell Mediated Immunity)

تلعب المناعة الخلوية دوراً مهماً في مقاومة الخمج بحمة النيوكاسل في المراحل المبكرة من حياة الطيور، وتتكون بعد مرور (٢-٣) ايام من دخول الحمة الى الجسم، وتتناقص خلال الاسبوع الثالث والرابع ودورها معادلة الحمة في الاستجابة المناعية الاولية (Timms & Alexander, 2003)، ويمكن تحفيز الاستجابة المناعية الخلوية باعادة التلقيح، وتتمثل المناعة الخلوية بتحفيز الخلايا اللمفية (T-Cell)، وتعمل قسم من الخلايا اللمفية على تحفيز الاستجابة المناعية للخلايا اللمفية نوع B (B Cell) وخلايا البلاعم الكبيرة (Macrophage) أو بقية الخلايا المساعدة (T helpers) (Reynolds & Maraqa ,2000).

3.14.2 المناعة الخلطية Humeral Immunity

تعد الاستجابة المناعية المتمثلة بانتاج الاضداد هي افضل دليل لتحديد المقاومة في الدجاج ضد حمة مرض نيوكاسل (Grimes, 2002). وتسمى الخلايا المسؤولة عن انتاج الاضداد بالخلايا اللمفية نوع B، وتتكون في المراحل الجنينية في الكبد، وكيس المح، ونخاع العظم ومن ثم تنتقل الى جراب فابيريشيا بعد (15) يوماً من مدة الحضن، ومن ثم يكون انتقال هذه الخلايا بصورة تدريجية الى الدم، والطحال، واللوز الاعورية، وغدة هاردر، والتوثة (Butcher & Miles, 2003). وتظهر الاضداد في مصل الطيور

خلال (6-10) ايام من دخول الحمة ويصل معيار الاضداد الى القمة خلال (3-4) أسابيع (Zee,2004). ومن ثم تبدأ بالانخفاض التدريجي خلال (3-4) اشهر، ويحفز اللقاح الزيتي انتاج مستوى عال جدا من الاضداد الكافية لحماية الطير ضد الخمج بالمرض لعدة أشهر (Miller *et al*, 1992). ويعتمد انتاج الاضداد على نوع العترة، وضراوتها، وحالة الطيور المناعية، والعمر، ونوع الطير، والتغذية، وتتحفز الاضداد المثبطة للتلازن والمعادلة للحمة بوساطة المستضدات السطحية على غلاف الحمة، وهما مستضد الالتحام ومستضد التلازن Neuraminidase Fusion Glycoprotein Haemagglutinin- (Chanadra*et al*,2001)ويكون ظهور الاضداد المثبطة للتلازن قبل الاضداد المعادلة لكن تختفي الاضداد المثبطة أولا تليها الاضداد المعادلة (Alexander,1998). والمناعة الخلطية المتمثلة بالاضداد والخلايا المكونة لها تكون متخصصة، وتتمثل هذه بالكلوبيولين المناعي IgM الذي يظهر بعد (4-5) ايام ويختفي بعد اسبوع و IgG الذي يظهر بعد (5) ايام ، ويصل انتاجه الى القمة بعد (3-4) اسبوع ثم يقل ببطء، ويعد IgG هو الاكثر اهمية ويتأخر ظهور هذه الكلوبيولينات في المصل عند التلقيح باللقاح المبطل الزيتي، وطريقة عمل الاضداد هي الالتصاق بالحمة وغلق المستقبل الخاص بها، أو منع إنتقالها وتسهيل عملية التهامها بواسطة البلاعم الكبيرة، ولكن ليس لها القابلية على قتل الحمة -Al) Garib *et al* , 2003).

4.14.2 المناعة الموضعية Local Immunity

ان الحماية الاولية قد تلاحظ بوجود مستوى قليل من الاضداد المقاسة في المصل او بغيابها ويعود ذلك الى وجود المناعة الموضعية في الجهاز التنفسي، وتعد غدة هاردر هي المصنع لمعظم الاضداد الموضعية المتخصصة لحماية العين التي تكون حساسة للخمج عن طريق الهواء والرذاذ (Glick, 2000). ويبدأ تجمع خلايا البلازما بعد الفقس ويتطور خلال (4) اسابيع من العمر، وتكون نسبتها عالية في غدة هاردر ومن ثم الغدد الدمعية ويحفز انتاج الكلوبيولين المناعي IgA بنسبة عالية وIgM وIgG بنسة اقل مع افرازات غدة هاردر، ويكون انتقال هذه الكلوبيولينات من غدة هاردر الى الافرازات المخاطية والدموع عن طريق الدورة الدموية (Russell , 1998). اما نسبة الخلايا المكونة للـ IgG, IgM, IgA في غدة هاردر فهي (1%، 3%،1%) على التوالي بعمر اسبوع ويزداد العدد الى (32%، 12%، 36%) بعمر(4) اسابيع (Russell & Ezeifeka, 1995) ومن ثم بزيادة عدد الخلايا المصنعة للـ IgA في غدة هاردر بتقدم عمر الطير فيصبح IgA هو السائد، وهناك عدة عوامل تؤدي الى قلة الكلوبيولين المناعي IgA مثل الاجهاد وسوء التغذية، الخمج بالامراض التنفسية (AL- Garib *et al* , 2003). وان اعطاء اللقاح الحي عن طريق التقطير بالعين يؤدي الى تكاثر الحمة اللقاحية في الخلايا المبطنة لقناة غدة هاردر لزيادة عدد الخلايا المكونة للكلوبيولينات المناعية القريبة من الاوعية الدموية ، وهجرة الخلايا اللمفية عبر قناة الغدة الى الانسجة اللمفيةالموجودة في الملتحمة ، مما يؤدي الى تثبيط ومعادلة الحمة في موضع دخولها ، ومن ثم حماية الطير من الخمج(Gallego *et al* , 1992).

15.2 التمنيع Immunization

التلقيح هي عملية روتينية تستخدم للسيطرة على الخسائر التي يسببها المرض، ولكنها لا تمنع تكاثر الحمة وطرحها لذلك لا تعد بديلة للادراة الجيدة والامن الحيوي (Senne et al, 2004) . ولقد بدأت الدراسات عن انتاج اللقاحات واستخدامها للسيطرة على مرض نيوكاسل بعد اكتشاف المرض، وقد استخدمت العتر

الحقلية الضارية بعد تضعيفها بالتمرير على خلايا الزرع النسيجي او الاجنة، ومن ثم استخدمت اللقاحات المبطلة من العتر الضارية في بداية الخمسينيات, ولقد استخدم الشب في البداية كمادة مساعدة (Adjuvent) ، ثم استخدمت الزيوت (Oil) في تحضير اللقاحات المبطلة الزيتية في اوربا عام 1960 (Droual *et al*, 1990). واعتمد الباحثون فكرة وجود تشابه في التركيبة الاستضدادية لجميع عتر حمة مرض نيوكاسل وان أيه واحدة منها قد توفر حصانة ضد العتر الاخرى عند اعطائها بشكل لقاح فاستخدمت العتر المتوسطة الضراوة ، ومن ثم العتر الضعيفة للوقاية من العتر الحقلية الضارية، ويمكن الاشارة الى ان هذه العتر تتباين في نسبة حصانتها ضد المرض(Allan *et al* , 1978). ولقد حدثت عدة تطورات باتجاه تحقيق حماية جيدة في اقل تكلفة حيث طور اللقاح الثابت حرارياً، واستخدمت فيه العتر التي لها خاصية الثبات الحراري او المقاومة للدرجة حرارة ومن ثم زيدت هذه المقاومة بوساطة الانتقاء الاصطناعي المختبري (Grimes,2002)، وتتميز هذه اللقاحات بأن لها القابلية على المحافظة على فعاليتها في حالة بقائها لمدة (12) اسبوعاً بدرجة (28) مْ بشكل مجفد، ومع ذلك لا يمكن تعريض هذه اللقاحات الى ضوء الشمس المباشر أو درجة الحرارة العالية (Llango *et al* , 2005) ويعطى هذا النوع من اللقاحات بطريقة التقطير بالعين ، وعن طريق العلف وماء الشرب والحقن واقتصر استخدام هذا النوع من اللقاحات ، وبنجاح في تلقيح الطيور المرباة في القرى ، وليس على نطاق تجاري (Wambura *et al* , 2000) فلقد توصل الباحثون الى ان استخدام تلقيحة مفردة باللقاح الثابت حرارياً بطريقة التقطير بالعين توفر حماية للافراخ الملقحة ولمدة طويلة، وان العتر المستخدمة في تحضيرها غير ضارية، ولها القابلية على الانتشار بين الطيور الملقحة وغير الملقحة (Dias *et al* , 2001). وتتحدد كفاءة اللقاح بثلاثة أمور رئيسية، هي درجة التمنيع للقاح، ونوع اللقاح (حي ،مقتول) كذلك العترة اللقاحية المستخدمة بالنسبة للطيور نفسها وبقية انواع الطيور التي يمكن ان تخمج نتيجة انتشار المستضد اللقاحي، وانتقاله (Alexander, 2000).

16.2 انواع اللقاحات Vaccines Types

اللقاحات المستخدمة للوقاية من المرض نوعين : -اللقاحات الحية واللقاحات المبطلة ، او المقتولة.

1.16.2 اللقاحات الحية المضعفة Live Attenuated Vaccines

وتستخدم فيها العتر القليلة الامراضية ، والقادرة على توليد استجابة مناعية كافية عند اعطائها ، والمثال النموذجي لهذه العتر هي (BI, F ، لاسوتا) (OIE , 2004) ويمكن اعطاؤها بطرائق مختلفة مثل التقطير بالعين او المنخر ، والرش ، والتضبيب ويكون لها تأثير في منع الخسائر التي يسببها المرض Jacob et al ,2001) وتعتمد فعالية اللقاح الحي على قابلية الحمة للتكاثر وتحفيز الاستجابة المناعية (Alexander, 2003). وتعد عترتيAG68، لاسوتا اكثر كفاءة في التمنيع من عترتي B1 ,F (Borland &Allan, 1980) فعند إعطاء الطير هذا النوع من اللقاحات تتولد لديه استجابة مناعية لمدد مختلفة قد تمتد الى (٤) اشهر وتكون الجرعة المستخدمة في هذه اللقاحات من (٥٠/ml $10^{6.5}$ EID_{50}/ml - 10^7 EID) لكل طير (Hanson, 1975)، وتعطى هذه اللقاحات بالأعمار الصغيرة وقد يصل معيار الاضداد بعد التلقيح الى (2^6-2^4) (Jacob *et al* , 2001) ، ويعطي اللقاح الحي في حالة التلقيح الاضطراري بطريقة التقطير بالعين او المنخرين او الرش بعترة B1 أو لاسوتا، فتكون وظيفتها تنافسي تثبيطي ومن ثم تعطي حماية موضعية، ويحفز التلقيح باللقاح الحي كل اشكال الاستجابة المناعية(Grimes ,2002).

تعد اللقاحات الحية متوسطة الضراوة Live Mesogenic Vaccine من اللقاحات ذات الكفاءة التمنعية العالية، وتستخدم بصورة مفردة في المناطق الموبوءة بمرض نيوكاسل الضاري (Alexander,2000) وغالبا ما تستخدم في التلقيحة الثانية معززاً للتلقيحة الاولية بالعتر ضعيفة الضراوة، ومن العتر المستخدمة Komarove, Muktesuar (OIE ,2005).

2.16.2 سلبيات وايجابيات اللقاحات الحية المضعفة:

تمتاز هذه اللقاحات بامكانيتها على تحفيز الاستجابة المناعية السريعة، وامكانية جمع كمية كبيرة من المستضد داخل عبوة صغيرة الحجم مما يسهل عملية نقلها، ومن سلبيات هذه الطريقة ان مدة التمنيع تكون قصيرة (Bell , 2001) ، لذا يعاد التلقيح على مدد متعددة لضمان مستوى مناعي كافي للحمــاية من الخمج بالمرض وتقل كفاءة التلقيح باللقاح الحي في حالة وجود الاضدادالامومية، كذلك الضراوة المتبقية التي تسبب مضاعفات ما بعد التلقيح مثل بطء درجة النمو ، والامراض التنفسية ، وقلة انتاج البيض (Grimes ,2002) .

3.16.2 اللقاحات المقتولة (Inactivated Virus Vaccines)

تحضر اللقاحات المبطلة بمعالجة سائل الالنتويس الحاوي على الحمة بمواد كيمائية مثل مادة الفورمالين، او بمادة البيتابروبيولاكتون Beta Propiolactone او بطرائق فيزيائية مثل التعرض للاشعة او درجة الحرارة (Grimes,2002) وتحضير مثل هذا النوع من اللقاحات من عتر B1,F,Ulster،Lasota ومن ثم تمزج مع عوامل مساعدة لزيادة واطالة القدرة التمنيعية لهذه اللقاحات (Waterville,2003)، ومن هذه المواد هيدروكسيدالالمنيوم، والشب، والاملاح الزيتية، وفيتامين E ، والبارافين السائل، ومادة الافردين Avridine وتعد اللقاحات المستحلبة الزيتية هي الاكثر كفاءة في احداث استجابة مناعية للعترة اللقاحية بعد التلقيح المفرد (Jansen *et al* ,2005) واللقاحات المبطلة المحضرة بصورة صحيحة تعطي حماية كافية ضد الخمج بالمرض وتتطور المناعة بعد (2-3) اسابيع بعد الحقن في الطيور السليمة ، وتختفي بعد (6) اشهر حيث يستمر وجود المستضد الحمي وتحرره بشكل بطيء ولمدد طويلة مؤدياً الى تحفيز انتاج الاضداد اذا اعطي بوجود المناعة الامومية الى ان يصل الطير الكفاءة المناعية عندما تقل الاضدادالامومية، وان التحفيز المستمر لمدد طويلة يؤدي الى توليد الحماية وتحفز اللقاحات المبطلة المناعة الخلطية (Erganis,2003) وبسبب عدم امكانية تكاثر المستضد في اللقاح الزيتي لذا يحقن بكمية كافية ، ويكون مستوى الاضداد في الامهات الملقحة باللقاح الزيتي معادل لنفس المستوى في الذرية بعمر يوم، وتستمر لمدة (3) اسابيع، وقد تصل الى الصفر بعمر(25) يوماً (Rahman *et al* , 2002) وتعد اللقاحات المبطلة اكثر كفاءة في التمنيع من اللقاحات الحية وتزداد هذه الكفاءة اذا سبقت باللقاح الحي (OIE,2005)، او اذا تزامن معه فعند اعطاء اللقاح الزيتي عن طريق الحقن بالعضلة مع اللقاح الحي للعترة B1 عن طريق التقطير بالعين لافراخ بعمر يوم واحد ذات مناعة امومية عالية فانه يوفرحماية عالية تتراوح بين (70-100%) طول مدة التربية في افراخ اللحم (عكار،2004).

4.16.2 ايجابيات وسلبيات اللقاحات المقتولة:

تتميز هذه اللقاحات بكونها لا تسبب مضاعفات جانبية ، او تفاعلات بعد التلقيح(Bell ,2001) وسهولة خزنها ولا تتاثر المناعة المكتسبة من الامهات فلذلك امكن استخدمها بعمر يوم واحد حيث تعطي استجابة

مناعية لمدة اطول وبمستوى كافٍ للحصانة من العترة الضارية (Pringle and Heath, R.B. ,1990). وتعد اللقاحات المبطلة امينة فلا تسبب انتشار المرض اذا حضرت بصورة صحيحة (Jansen, *et al* 2005) ومن سلبيات هذه الطريقة التكلفة عند الانتاج ، وتطبيقها في الحقول حيث تحتاج الى ايدي عاملة كثيرة بالاضافة الى الوقت (Biggs, 1990). كما وان اللقاحات المبطلة الزيتية غير كفوءة اذا استخدمت كتلقيح اولي(Vaneck ,1987) . وتظهر الاستجابة المناعية بعد (10-15) يوماً ولاتحفز المناعة الخلوية ما لم تعطى مع اللقاح الحي، وان التلقيح باللقاحات الزيتية يؤدي الى تكوين افة موضعية في موضع الحقن (Franchini *et al* , 1995) .

17.2 طرائق التلقيح

1.17.2 طريقة التلقيح بوساطة الـرش

طريقة واسعة الانتشار سهلة التطبيق، غير مكلفة بالاضافة لكفاءتها في توليد استجابة مناعية سريعة ، ومتجانسة خلال ثلاثة ايام بعد التلقيح وبكفاءة (4) اضعاف من طريقة ماء الشرب ويحفز هذا النوع من التلقيح الجهاز المناعي المخاطي، لكون الخمج يحدث بصورة طبيعية عن طريق المسالك التنفسية التي تكون الظهارة فيها ملائمة لنمو الحمة وتتمثل هذه الاستجابة بتكوين اجسام مضادة بكمية كبيرة من الكلوبيولين المناعي نوع (IgA) في مناطق دخول الحمة، وتكاثرها في القناة التنفسية ، والقناة الهضمية ولذلك تستخدم هذه الطريقة في حالات التلقيح الاضطرار(Ritchie &Harrison ,2004) . باستخدام العتر اللقاحية الضعيفة مثل (B1 ، لاسوتا) ويعتمد نجاح هذه الطريقة على عدة عوامل منها حجم القطيرات المستخدمة، و تكون عادة بين (30-100) مايكرون في الاعمار الصغيرة بحيث لا تتمكن من النفاذ الى الجزء السفلي من الجهاز التنفسي (اسفل القصيبات الهوائية والاكياس الهوائية) ، وتستخدم القطيرات باقل من هذا الحجم أي قطيرات ناعمة في تلقيح الطيور الكبيرة بالعمر التي سبق تلقيحها ومن العوامل الاخرى عدم وجود اخماج مرضية في القناة التنفسية كالخمج بالمايكوبلازما كاليسيبتكم ، العصيات القولونيـة (Spradbrow,2002) . ولنوعية العترة المستخدمة في اللقاح دور مهم في كفاءة هذا النوع من التلقيح فالعترة (B1) اذا ما اعطيت بطريقة التلقيح بالرش الخشن لا تؤدي الى علامات تنفسية ، او اجهاد للطيور كتلك التي تحدثها عترة لاسوتا لكن الاستجابة المناعية التي تحدث بعد اعطاء عترة لاسوتا تكون افضل من التي تحدثها عترة B1 خاصة عند وجود المناعة الامومية، كما ان هذه الطريقة تتاثر بنوعية السائل المستخدم للتخفيف (Geering *et al* , 2000) ، ونسبة الكلور والمواد الكيماوية والاملاح التي تثبط من فعالية الحمة لذلك يضاف حليب فرز بمقدار (1: 1000) للسائل المخفف للمحافظة على حيوية الحمة (Morton ,2004).

2.17.2 طريقة التلقيح بالتقطير بالعين والمنخرين

تعد من طرائق التحصين الفردية ، وتعطي استجابة مناعية جيدة ومتجانسة لفترة زمنية اطول من طريقة التلقيح بماء الشرب والتلقيح بالرش ، واكبر منها باربعة اضعاف (Oosterwijk *et al* , 2003) ويعطي هذا النوع من التلقيح مناعة موضعية بتحفيز غدة هاردر لتكوين الكلوبيولينات المناعية IgA (Alders & Spradbrow, 2001) بالاضافة الى تكوين الـ (IgG,IgM) في الدموع ومصل الدم (Russall & Ezeifeka, 1995) ومن العتر المستخدمة عترة (B1 ، لاسوتا ،F)، ولقد لوحظ ان استخدام العترة اللقاحية (B1) طفيفة الضراوة اكفا في تحفيز الاضداد المناعية نوع IgA, IgG, IgM من بقية العتر عند اعطائها في اليوم الاول بعد الفقس وذلك بقدرتها على التكاثر في الخلايا الظهارية للقنوات الدمعية،

والمنخرين بصورة اكبر من العتر الاخرى(Baxendale,1998)، ولا توجد علاقة بين درجة الحماية بعد التلقيح بهذه الطريقة ، ومستوى الاضداد في امصال الدم فقد اشار الباحث (Giambrone, 1985) انه بالرغم من وجود مستويات منخفضة من الاضداد في امصال الطيور التي لقحت الا انها اظهرت حماية ضد الخمج بحمة نيوكاسل الضاري عن طريق الجهاز التنفسي ، ويعود السبب الى المناعة الموضعية المتولدة بعد التلقيح بهذه الطريقة، وتستمر لمدة زمنية طويلة وتوفر درجة عالية من الحماية (Oosterwijke *et al* ,2003) وتعد كل من طريقتي التقطير بالعين والتقطير بالمنخرين كفوءة الا ان التقطير بالعين اكفأ (Russell ,1993). ومن سلبيات طريقة التلقيح بالتقطير صعوبة تطبيقها في الحقول الكثيفة التربية لارتفاع تكلفة تنفيذها بالاضافة الى الجهد (Cozen & Runge , 2004) .

3.17.2 طريقة التلقيح بماء الشرب

تعد هذه الطريقة من اسهل الطرائق، واقلها كلفة، وهي شائعة الاستعمال لكنها تعطي استجابة مناعية قليلة ومتباينة مما قلل من كفاءتها (Alexander *et al* ,2004) ولا يفضل اعطاؤها بعمر يوم بعد الفقس بسبب تداخلها مع المناعة الامومية بالاضافة الى قلة استهلاك الماء (Baxendale , 1998) وتظهر الاستجابة المناعية بعد (٥-٦) ايام بعد التلقيح. وغالباً ما تكون التفاعلات الجانبية بعد التلقيح بماء الشرب اقل من بقية الطـرائق وتتاثر هذه الطريقة بعدة عوامل منها درجة الحرارة، لان ارتفاع درجات الحرارة يؤدي الى تدافع الطيور ومن ثم يكون استهلاك الماء غير متساوٍ، وبعدها تكون الاستجابة المناعية غيرمتساوية (Cozens & Runge, 2004). ان ضوء الشمس المباشر ووجود المواد الكيميائية في الماء مثل الكلور ، واليود ، والنحاس تعمل على تقليل تركيز الحمة او قتلها (Geering *et al* ,2000). فيفضل اضافة حليب فرز بنسبة (1: 400) جزء ماء لحماية الحمة اللقاحية لمدة زمنية اطول ومن ثم الحصول على مستوى مناعي افضل لدى الطيور، ويخفف اللقاح المستخدم حسب عمر الطيور المراد تلقيحها (Alexander,1997).

4.17.2 طريقة التلقيح بالحقن

غالباً ما تستخدم هذه الطريقة باعطاء اللقاحات المقتولة المحضرة من العتر الضعيفة ، والمتوسطة الضراوة والضارية ، فيحقن اللقاح بالعضل في منطقة الصدر ، والرجل ، والذنب ، والجناح ، او تحت الجلد في منطقة الرقبة (Cozen & Runge ,2004)، وقد استخدمت العتر المتوسطة في انحاء عديدة من اسيا ومثل هذا النوع من اللقاحات لا تعطى باعمار مبكرة انما كتلقيح ثانوي بعد التلقيح الاولي بالعتر ضعيفة الضراوة (Geering *et al* ,2000) ، ومن ايجابيات هذه الطريقة انها تعطي مناعة لمدة طويلة بالاضافة الى كون المناعة موحدة ، وتستخدم في تلقيح قطعان الامهات ، والدجاج البياض بالاضافة الى افراخ اللحم في المناطق الموبؤة الا ان سلبياتها هي انها تتطلب وقت وجهد ، وتكلفة مادية بالاضافة الى ان الطيور الملقحة بهذه الطريقة باللقاح الزيتي تسبب افـة بسيطة في موضع الحقن مع احتمالية تلوث المحاقن لذلك يفضل الحقن في منطقة الرقبة تحت الجلد، لان الزيت يبقى لمدة (70) يوماً او اكثر مما يؤثر على كفاءة اللحم بالنسبة للمستهلك (Stone et al ,1997).

اجريت التجربة في الحقل الحيواني لكلية الطب البيطري / جامعة الفادسية في قاعة مجهزه بكافة مستلزمات التجربة للفتره من 2016/12/18 ولغاية 2017/1/15.

تم جلب (75) فرخ دجاج لحم (Ross 308) بعمر يوم واحد غير مجنس من مفقس الكوثر في الدغاره وقسمت بشكل عشوائي الى خمسة مجاميع متساوية، غذيت على عليقة متوازنة. وكانت المجاميع كالاتي:

.تم طحن بذور الحبة السوداء ومزجها مع العلف الخاص بالمجموعتين الثالثة والرابعة فقط.

2.تم جلب (75) فرخ دجاج لحم بعمر يوم واحد نوع (Ross 308) قسمت على خمسة مجاجيع متساوية كل مجموعة (15) فرخا ولقحت كما في الجدول (3-1) وكما يلي:

G1 : اعطيت عليقة اساسية لاتحتوي على الحبة السوداء كاضافة علفية ولم تلقح بلقاح النيوكاسل، بينما لقحت بلقاح الكمبورو الاول والثاني.

G2 : اعطيت العليقة الاساسية لاتحتوي على مسحوق الحبة السوداء كاضافة علفية ولقحت بلقاح النيوكاسل حي نوع لاسوتا Lasota جرعة واحدة عن طريق ماء الشرب، كما لقحت بلقاح الكمبورو الاول والثاني .

G3 : اعطيت العليقة الاساسية تحتوي على مسحوق الحبة السوداء كاضافة علفية ولقحت بلقاح النيوكاسل حي نوع لاسوتا Lasota جرعة واحدة عن طريق ماء الشرب، كما لقحت بلقاح الكمبورو الاول والثاني.

G4 : اعطيت العليقة الاساسية تحتوي على مسحوق الحبة السوداء كاضافة علفية ولقحت بلقاح النيوكاسل حي نوع لاسوتا Lasota جرعة واحدة عن طريق التقطير بالعين، كما لقحت بلقاح الكمبورو الاول والثاني.

G5 : اعطيت العليقة الاساسية لاتحتوي على مسحوق الحبة السوداء كاضافة علفية ولقحت بلقاح النيوكاسل حي نوع لاسوتا Lasota جرعة واحدة عن طريق التقطير بالعين، كما لقحت بلقاح الكمبورو الاول والثاني.

واستخدم برنامج تلقيح تضمن اعطاء اللقاح الحي المضعف (عترة لاسوتا) بطريقة التقطير بالعين بأستخدام عبوة حاوية على (1000) جرعة . كما لقحت كل المجاميع بلقاح الكمبورو الاول والثاني عن طريق ماء الشرب (2500) جرعة.

3-1 تحضير حقل التربية:

تمت عملية تنظيف وغسل مكان التربية بشكل جيد وعقم باستخدام الفورمالين (40%) ، اذ يعتبر تركيزة 100%والبرمنكنات بنسبة (1:2) على التوالي، مع ضمان نسبة رطوبة لا تقل عن 70% ودرجة حرارة 25 C° لضمان تبخر غاز الفورمالديهايد ، وتركت لفترة 48 ساعة ثم فتحت وتم تشغيل الساحبات للتخلص من بقايا الغاز قبل وصول الافراخ. (Allam, 1975) .

تم تحضير ماء وسكر مع مجموعة فيتامينات قبل وصول الافراخ ب (24) ساعة وكانت درجة الحرارة ($33C^{\circ}$) ، على ان تقلل درجة الحرارة ($2C^{\circ}$) اسبوعيا، كما استخدمت مصابيح قوة (60) واط (7 واط /م^2) (Kassab,2005).

شكل رقم(3-1) تصميم التجربة

(75) فرخا بعمر يوم واحد قسمت الى (5) مجاميع متساوية وبشكل عشوائي وكما يلي	المجموعة الاولى: اعطيت عليقة اساسية لاتحتوي على الحبة السوداء كاضافة علفية ولم تلقح بلقاح النيوكاسل، بينما لقحت بلقاح الكمبورو الاول والثاني.
	المجموعة الثانية: : اعطيت العليقة الاساسية لاتحتوي على مسحوق الحبة السوداء كاضافة علفية ولقحت بلقاح النيوكاسل حي نوع لاسوتا Lasotaجرعة واحدة عن طريق ماء الشرب، كما لقحت بلقاح الكمبورو الاول والثاني.
	المجموعة الثالثة: اعطيت العليقة الاساسية تحتوي على مسحوق الحبة السوداء كاضافة علفية ولقحت بلقاح النيوكاسل حي نوع لاسوتا Lasotaجرعة واحدة عن طريق ماء الشرب، كما لقحت بلقاح الكمبورو الاول والثاني.
	المجموعة الرابعة: اعطيت العليقة الاساسية تحتوي على مسحوق الحبة السوداء كاضافة علفية ولقحت بلقاح النيوكاسل حي نوع لاسوتا Lasotaجرعة واحدة عن طريق التقطير بالعين، كما لقحت بلقاح الكمبورو الاول والثاني.
	المجموعة الخامسة: اعطيت العليقة الاساسية لاتحتوي على مسحوق الحبة السوداء كاضافة علفية ولقحت بلقاح النيوكاسل حي نوع لاسوتا Lasotaجرعة واحدة عن طريق التقطير بالعين، كما لقحت بلقاح الكمبورو الاول والثاني.

جدول رقم (3-1) يوضح نوع اللقاح وتاريخ التلقيح وطريقة الاعطاء حسب المجاميع

المجموعة	لقاح LasotaND Boehringer Ingelheim-Germany		طريق الاعطاء	لقاحIBD		طريق الاعطاء
	العمر باليوم			العمر باليوم		
G1	لم تلقح			(13) استخدمت عترة IBD(228E) Intervet-Holland	(24) استخدمت عترة IBD (D78) Intervet-Holland	ماء الشرب
G2	(10)	(20)	ماء الشرب			ماء الشرب
G3			ماء الشرب			ماء الشرب
G4			تقطير بالعين			ماء الشرب
G5			تقطير بالعين			ماء الشرب

(3-2) سحب عينات الدم

تم سحب دم في اليوم الاول من عمر الافراخ لاجراء اختبار الاليزا لمعرفة مستوى المناعة الامية عن طريق قتل الافراخ، وفي اليوم (30,20) عن طريق القلب وعن طريق الوريد الجناحي لقياس مستوى مناعة النيوكاسل بعد تطبيق البرنامج اللقاحي،وترك الدم وبشكل مائل الى اليوم الثاني في الثلاجة ثم استخدم جهاز الطرد المركزي وتم الاحتفاظ بالسيرم بالتجميد باستخدام Epindrof tube .

(3-3) وزن الافراخ

كما تم وزن الافراخ اسبوعيا، وسجلت الاوزان.

جدول رقم (3-2): يوضح التركيب الكيميائي لعلقتي البادئ والنهائية المستخدمة في التجربة.

المادة العلفية %	العليقة البادىء (1-21) يوما	العليقة النهائية (21-35) يوما
حنطة	27.8	35.5
ذرة صفراء	30	30
كسبة فول الصويا	28	21
مركز بروتين حيواني	10	10
زيت نباتي	3	3
حجر الكلس	1	1.2
ملح الطعام	0.2	0.3
المجموع	100	100

التركيب الغذائي العام المحسوب

الطاقة الممثلة كيلو سعره / كغم	3075	3125
البروتين الخام%	22.7	20
نسبة الطاقة الى البروتين	135	155

(3-4) حيوية الافراخ : تمت مراقبة حيوية الافراخ وكانت بصحة جيدة ولم تسجل هلاكات خلال فترة التجربة.

(3-5) التلقيح :استخدمت طريقتي التقطير بالعين، وماء الشرب.

(3-5-1) التقطير بالعين:

تم حل اللقاح باستخدام محلول حل اللقاح من شركة انترفت / هولندي المنشأ وفقا لطريقة (Koopman, 2008).

(3-5-2) التلقيح عن طريق ماء الشرب:

حضر ماء اللقاح الخالي من الكلور واضيف له الحليب الفرز بنسبة 2.5 غم /لتر وفقا لطريقة(Koopman, 2008).

شكل (3-1) : بذور الحبة السوداء

شكل (3-3) شكل نبات الحبة السوداء

النتائج والمناقشة

ان هذه الدراسة تهدف الى استعمال الحبة السوداء كاضافات علفية لرفع الاستجابة المناعية للدواجن لمقاومة الامراض الفتاكة مثل مرض النيوكاسل وللتقليل او الحد من استخدام الادوية والمضادات الحياتية المستعملة والتي لها الكثير من الاضرار على صحة الانسان كونها تترك متبقيات في المنتج النهائي للدواجن، وكذلك لتسجيل الزياده الوزنيه الاسبوعية.(Gunal *et al*., 2006)

ان الدراسة الحالية اظهرت تفوقا معنويا للمجموعتين الثالثة والرابعة من حيث الاستجابة المناعية والزيادة الوزنية عند إعطاء الحبة السوداء بنسبة 2.5 ٪ بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

جدول رقم (4-1) يوضح نتائج فحص اختبار الاليزا (ELISA):

Groups	Maternal Immunity (1) Day	First Time (20) Days	Second Time (30) Days
G1	**13282.55±288.35 Aa**	**2677.25±24.28 Ba**	**1187.5±341.79 Bb**
G2		**3636.75±192.57 BCa**	**9937±309.59 Cb**
G3		**4622.5±165.64 Ca**	**13050.5±97.88 Db**
G4		**3750±594.06 BCa**	**11686.25±1019.18 Eb**
G5		**3350.5±334.01 BCa**	**8789.75±1037.94 Cb**

القيم تمثل المعدلات + الخطاء القياسي.
الحروف المختلفة بين اي مجموعتين تشير الى وجود اختلافات معنوية تحت مستوى احتمال (0.05).
الحروف المتشابهة بين اي مجموعتين تشير الى عدم وجود اختلافات معنوية تحت مستوى احتمال (0.05) .
الحروف الكبيرة تدل على القراءة العمودية بين المجاميع، في حين الحروف الصغيرة تدل الى القراءة الافقية.

تشير نتائج الد راسة الى زيادة في مستوى الكلوبيولينات المناعية (Immuoglobulines) للمجاميع المعاملة بالعليقة الاساسية مع الحبة السوداء (G3,G4) مقارنة بالمجاميع المعاملة بالعليقة الاساسية بدون الحبة السوداء فضلا عن مجموعة السيطرة عند مستوى احتمال ($p<0.05$) ، وان السبب في زيادة مستوى الكموبيولينات المناعية في المجاميع المعاملة بالعليقة الاساسية مع الحبة السوداء قد يعود الى ان الحبة السوداء تمتلك تأثيرا في زيادة السايتوكينات التي تؤثر في خلايا B اذ تعمل هذة الخلايا على زيادة انتاج الاجسام المضادة من خلال زيادة سرعة انقسامها (نتيجة لزيادة فاعلية الاستجابة المناعية)، وكذلك تزداد الفاعلية البلعمية بسبب تاثير الانترلوكينات (Haq,*et al*,.1995).

اظهرت المجموعتين (G3,G4) المعاملتين عليقتيهما بالحبة السوداء بعد عشرة ايام من التلقيح الثاني ارتفاعا كبيرا في مستوى المعيار الحجمي (Titer) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة التي انخفض المعيار الحجمي للاجسام المناعية الى ادنى مستوى اذ اصبح غير حاميا وبالتالي اظهرتا فرقا معنويا ($p<0.05$). كذلك الجدول (4-1) يظهر تفوق المجموعتين (G3,G4) في مستوى الاجسام المناغية ($p<0.05$) بالمقارنة مع المجموعتين (G2,G5) على التوالي، كما ان المجموعة (G3) اظهرت اعلى معيار (Titer) عن باقي المجاميع ويعود السبب لربما الى طريقة اعطاء اللقاح عن طريق ماء الشرب اذ تكون الاستجابة المناعية الجسمية اقوى واسرع مما هي علية عند التلقيح عن طريق التقطير بالعين (G4) اذ اظهرت فرقا معنويا ($p<0.05$) وهذا ما يتفق مع ما توصل الية (Ahmad *et al*.2004) عندما اعتبر ان مسحوق الحبة يعد معززا مناعيا اذ بين ان مسحوق الحبة السوداء او زيتها يزيد من مستوى الكلوبيولينات المناعية في المصل Serum Immunoglobulins (IgM,IgG,IgA). للحبة السوداء

دورا في زيادة هرمون Thyroxin Hormone الدرقين (Meral, *et al*,. 2003) وهذا بدورة يعزز من افراز هرمون النمو اذ يعتبر هذا الهرمون في الدواجن من المعدلات المناعية Immunomodulator فهو يعمل على زيادة Blastogenic response of Lymphocytes وزيادة كل من Cell-mediated Cytotoxic activity وحجم الطحال (Haddad, & Mashaly, 1991).

جدول رقم (4-2) يبين معدل الزيادة الوزنية الاسبوعية:

المجاميع	الوزن بعمر (1)يوم	نهاية الاسبوع الاول	نهاية الاسبوع الثاني	نهاية الاسبوع الثالث	نهاية الاسبوع الرابع	نهاية الاسبوع الخامس
G1	40±0.68	160±0.53 Aa	375±1.23 Ab	700±1.5 Ac	972.5±8.36 Ad	1850±17.07 Ae
G2		165±0.69 Aa	380±2.88 Ab	725±258 Ac	1134.28±11.51 Bd	2000±27.38 Be
G3		170.33±0.84 Aa	425±5.77 Ab	796.42±4.32 Bc	1350±10.24 Cd	2250±14.43 Ce
G4		165±0.93 Aa	400±5.32 Ab	745.83±6.75 ABc	1257.14±12.7 Dd	2200±12.92 De
G5		160±0.93 Aa	375±1.82 Ab	700±4.18 Ac	1130±4.28 Bd	1900±12.9 Ee

القيم تمثل المعدلات + الخطاء القياسي.
الحروف المختلفة بين اي مجموعتين تشير الى وجود اختلافات معنوية تحت مستوى احتمال (0.05).
الحروف المتشابهة بين اي مجموعتين تشير الى عدم وجود اختلافات معنوية تحت مستوى احتمال (0.05) .
الحروف الكبيرة تدل على القراءة العمودية بين المجاميع، في حين الحروف الصغيرة تدل الى القراءة الافقية.

بينت نتائج الاوزان في التجربة الى عدم وجود فروق معنوية حتى نهاية الاسبوع الثاني جدول رقم (4-2)في حين تفوقت المجموعتين (G3,G4) عن باقي المجاميع في نهاية الاسبوع الثالث واظهرت فروقا معنوية ($p<0.05$) وهذا ناتج عن اعطاء هاتين المجموعتين مسحوق الحبة السوداء بنسبة 2.5% مع العليقة وهذا يتفق مع ما جاء بة(Al-Homidan *et al*., 2002) اذ اثبتوا ان اعطاء الحبة السوداء بنسبة 2.5% ادت الى زيادة في وزن الجسم وكفاءة التحويل الغذائي. واثبت الباحث(Khan *et al*., 2012) وجماعتة ان للحبة السوداء دورا فاعلا في زيادة نسبة استهلاك العلف وبالتالي زيادة وزن الجسم وهذا ما يتفق مع نتائج البحث.

تمتلك الحبة السوداء تأثير منشط للنمو Growth promoter ويعزى ذلك الى التأثير المنشط للحبة السوداء في العصارة الصفراء، اذ تؤدي الى زيادة هضم الدهون الموجودة في العلف مما يساعد على زيادة الوزن فضلا عن أن الزيادة الحاصلة في وزن الجسم يمكن ان تعزى الى تأثير الحبة السوداء في زيادة هرمون الدرقين Thyroxin (Meral,*et al*.,2003) الذي يعزز من افراز هرمون النمو المفرز من النخامية والذي يؤثربدورة في ايض البروتينات اذ يؤدي الى زيادة نضوحية الاحماض الامينية وزيادة تركيزها داخل الخلايا وهذا يؤدي الى زيادة عملية تصنيع البروتين (Sturkie, 1986)، كذلك الباحث (Jang *et al*. 2004)وجماعتة اثبتوا ان زيوت الحبة السوداء تزيد من فعالية انزيم التربسين وانزيم الاميليز المفرز من البنكرياس وبالتالي زيادة هضم البروتين والدهون والسيليلوز.كما ان بذور الحبة السوداء تحتوي على انزيم Lipase (Duke, 1992) مما يزيد من هضم الدهون. كما ان بعض الدراسات اكدت ان للحبة السوداء دور في منع تاثير البكتريا المرضية (Gilani, *et al*., 2004).

يلاحظ في نهاية الاسابيع الثلاث الاخيرة وجود فرق معنوي $p<0.05$ في الاوزان ولكافة المجاميع بالرغم من بقاء المجموعة الثالثة والرابعة تتصدر المجاميع (G1,G2,G5)، اذ ان المجموعة الثالثة سجلت اعلى الاوزان تليها المجموعة الرابعة وهذا يدل عاى التاثير الايجابي لاستخدام الحبة السوداء كاضافات علفية وبنسبة 2.5%.

خلال فترة التجربة تمت مراقبة حيوية الافراخ ولم تسجل اية علامات ولم تسجل هلاكات.

- Abdalla, M.O.; Mohammed, M.E.; Ali, A.S.; Mukhtar, M.M. and Mohd-Azmi, M.L. (1999). The immunostimulatory effect of Levamisole and egg white powder on humoral and cellular immunity to Newcastle disease vaccination. Malaysian. Appl. Biol. 28: 73-77.
- Ahmad,Z. Ghafoor,A. Aslam,M.(2004).Introduction of medicinal Herb and spices as crop. Ministry of Food, Agriculture and Livestock, Pakistan.
- Alders, R . and Spradbrow , P .(2001) .Controlling Newcastle disease in village chickens . A field manual ACIAR Monograph (82). Australin Centre for International Agricultural Research , Canberra .
- Alexander , D.J. ; Bell , J.G. and Alder , R.G . (2004). Newcastle disease.Atechnology review. FAO. Animal productain and health. Viale delle Terme dicarcalla , 00100 . Rome. Italy : 161 .
- Alexander, D. J. (2003). Newcastle disease and other paramyxovirus. Pneumovirus. In: Disease of poultry. 11th Ed , Eds by Calnek ,B.W .; Saif, Y.M. .; Barnes , H.J .; Fadly, A.M .; Glisson, J.R .; Mcdougald, L.R. and Swayne, D.E. Iowa Stat Press. Pp. 64-81.
- Alexander, D.J. (2000). Newcastle disease and others avian paramyxovirus. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 19:443-462.
- Alexander, D.J. (1992). Paramyxoviridae, Infection, and Immunity. Academic Press, London.Vol 3. Pp .1203-1205.
- Alexander. D.J.(1997).Newcastle disease and other paramyxoviridae infections. In:Disease of poutry, 10th Ed ,Eds by . Calnek , H.J .; Barnes , B.W.; Beard , C.W.; Reid , W.M. and Yoder, H.W. Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa. Pp. 541-570.
- Alexander, D.J. (1998). Newcastle disease and other paramyxovirus. In: Isolation & Identification of Avian Pathogens; 4th Ed, Eds by Swayane, D.E.; Glaisson, J.R.; Jackwood, M.W.; Pearson, J.E. and Reid, W.M. American Association of Avian Pathologists. U.S.A. Pp.156-163.
- Alexander, D.J. (2001). Newcastle disease. British Poult . Sci. (Cited by Aldous & Alexander 2001).
- Alexander, D.J. and Allan W.H. (1974). Newcastle disease. The Nature of the Virus strain. Bull. off. Int. Epiz. 79(1-2):15-26.
- Al- Garib , S.O.; Gielkens, A.L.; Gruys, D. S.; Hartog, L.; Koch, G. and Cabstric,T. (2003). Immunoglobulin class distribution of systemic and mucosal antibody response to Newcastle disease in chickens. Avian Dis. 47(1): 32-40.
- Al-Homidan,A.;Al-Qarawi,A.;AI-WailyS.;Adam,(2002)Response of broiler chicks to dietary Rhazya &Nigella sativa. Br.Poul.Sci.43(2):291-296.

- Allan, W.H.; Lancaster, J.E. and Toth, B. (1978). Newcastle disease vaccines their production and use . F. A .O, Rome. Allam, S. (1975). "Breeding and Management of Poultry" 2nd Ed. Cairo Egypt. Pp: 32-38.
- Ausvetplan (Ausralian Veterinary Emergency Plan) .(2002) .Disease Strategy ,Newcastle disease 2nd Ed .Agriculture and Resource Management Council of Australiaand New Zealand.
- Baxendale, W. (1998). Current methods of delivery of poultry vaccines. In: Poultry Immunology. Eds by Davison, T.F.; Morris, T.R and Payne, L.N. Jr. 1st Ed. Oxford, U.K: 375-387.
- Bell, J.G. (2001) . Acomparsion of the different vaccines available for the control of Newcastle disease in village chickens . ACIAR Procecding . 103 : 56-60.
- Biggs, P.M. (1990) . Vaccines and vaccination –past , present and future . British. Poult. scie. 31: 3-22.
- Bohara ,K.B.(1997) .Comparative study on the efficacy of heat resistant V4 vaccine given in feed and water against against the challenge infection of Newcastle isease of chicken in Nepal .Vet .Rev .12 :7-9.
- Borland, L.J. and Allan, W.H. (1980). Laboratory tests for comparing live lento genic Newcastle disease vaccines. Avian Pathology. 9:45-59.
- Bozorghmehrifardl, M.H. and Mayahi, M. (2000). Comparsion of enzyme linked immunosorbent assay and haemagglutination inhibition test for detection of antibodies against ND vaccine in broiler chicks. Ind. J. Anim. Sci. 70: 39-40.
- Butcher , D.G .and Miles , R.D. (2003) . The avian immune system . Institute of Food and Agricultural Sciences (IFAS). University of Florida .
- Chandra, R.; Rao, V.D.P.; Gomez, J.C.V.; Shukla, S.K. and Banergee, P.S. (2001). Newcastle disease. In: Dis of Poutry and Ttheir Control.
- Cidrap .(2005) . Newcastle disease . Center for Infections Disease Research and Policy . Academic Health Center . University of Minnesota.
- Cozens, M .and Runge, G (2004). Newcastle disease. The state of Queensland; Department of primary Industries. WWW.dpi.qld.gov.au.
- Deleeuw ,O.S .; Kock ,G .; Hartog ,L .; Ravenshorst ,N . and Peeteres (2005) .Virulence of Newcastle disease virus determined by The cleavage sit of the fusion protein and by both the stem region and globlar head of the haemagglutinin –neuraminid- ase protein .J .Viro .86:1759-1769.
- Desousa, R.L.; Montassier, H.J. and Pinto, A.A. (2000). Detection and quantification of antibodies to Newcastle disease virus in ostrich and rhea sera

using a liquid phase blocking enzyme linked imunosorbent assay. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 7(6): 940-944.

- Dias, P.T; Alders , R.G; Fringe , R and Mata, B.V.(2001) .Laboratory and field trials with thermostable live Newcastle disease vaccines in Mozambigue. National Veterinary Research Institute. Maputo, Mozambique.
- Droual , R; Bickford , A.A.; Charlton , B.R and Kurey , D.R. (1990). Investigation of problem associated with intramuscular breast injection of oil adjuvanted killed vaccines in chickens . Avian Dis 34: 473-478.
- Duke, J. A. 1992. Handbook of Phytochemical Constituents of GRAS Herbs and other Economic Plants. CRC press, Inc. Florida, USA.
- Dwinger ,R.H .(2000) .Animal trypanosomosis ,diagnosis andepidemiology .IAEA,Vienna .Pp.251 .
- Erganis, O. (2003). Evaluation of three different vaccination regimes against Newcastle disease in central anatolia. Turk.J.Vet. anim. Sci (27): 1065-1069.
- Ezeibe ,M .(2005) .Red blood cell elution time for strain of Newcastle disease virus .J .Vet .Sci .(Abstract).
- Fenner , F.J .; Gibbs , E.P .; Murphy ,F.A .; Rott ,R .; Studdert ,M .J .and White ,D.O .(1993) .Paramyxoviridae .2nd Ed .Pp .471-488 .
- Flensburing M.F .(2001) .Epidemiological evalution of viral disease in the Danish broiler chicken producting using the example of infectious Bursal disease and Newcastle disease Ph D Thesis Pp .47-48.
- Franchini , A; Bertuzzi, S; Tosamelli , G. and Manfreda , G. (1995). Vitamin E in viral inactivated vaccines. Poult. Sci.74:666-671.
- Gallili, G.E and Ben-Nathan, D.(1998). Newcastle disease vaccines. Biotechnol Adv. 16(2): 343-66. (Abstract). Gallego ,M .;Cacho ,E .; Arnal ,C .and Bascuas ,J.A .(1992) .Local immune response in the chicken harderian gland to antigen given by different ocular routes .Research in Vet . sci .52 :38-43 .
- Gardner ,J .M .(2003) .Newcastle disease .Poult Industry Council for Reseaech and Hirsh ,D.C.and.Zee.
- Geering , W.A . ; Forman , A .J. and Nunn , M. J . (2000) Disease Strategy. Newcastle disease . Australin Veterinary Emergency Plan 2nd ed . Canberra.
- Giambrone, J.J. (1985). Laboratory evaluation of Newcastle disease vaccination program for broiler chicken. Avian Dis. 29: 479-487.

- Gilani, A. H., Q. Jabeen and M. A. U. Khan.2004. A Review of Medicinal Uses and Pharmacological Activities of Nigella sativa. Pakistan J. Biol. Sci. 7:441-451.
- Glick ,B .(2000) .Immunophysiology . In Avianphysiology 5th Ed. Pp .657-667 .
- Grasso, M. Ebako. (2003). Newcastle disease. Cooperative Extension, Institue of Agriculture and Natural Resourse, University of Nebraska- Lincoln.
- Grimes, E. Sally. (2002). A basic laboratory manual for the small- scaie production and testing of I-2 Newcastle disease vaccine. Australian Center for International Agricultural Research . ISBN . 946-974.
- Gunal, M. ;Yayli , G. Kaya,O. ; Karahan , N. ; Sulak,O . 2006. The effects of antibiotic growth promoter ,probiotic or Organic acid Supple- mention on performance intestinal microflora and tissue of broilers . Int . J. poult .Sci . 5: 149 – 155.
- Haddad,E.E. & Mashaly,M.M.(1991).Chicken growth Hormone ‹triiodothyronin & thyrotropin releasing Hormone modulation of the levels of chicken natural cell mediated cytotoxicity. Developmental & Comparative Immunology, 15:65-71.Cited in Poulty Eds by Davidson, T.F.;Morris‹ T.R.& Payne, L.N.Jr.I Ed., Oxford, U.K.PP:331.
- Hanson, R.P.(1972). Newcastle disease. In: Disease of Poultry 6th Ed .Eds by Hofstad, M.C.; Calnek, B.W.; Helmboldt, C.F.; Reid, W.M. and Yoder, H.W.
- Haq,A.; Abdullatif, M.; Lobo,P.; Khabar,K., Sheth,K.; Al-Sedairy,S. (1995) Nigella sativa: Effect on human lymphocytes and polymorphonuclear leukocyte Phagocytic activity. Immunopharmacology. 30(2):147-155.
- Herenda , D .; Chambers ,P .G .; Ehriqui ,A .; Seneviratna ,P . and Dasilva ,J.P .(2000) .Newcastle disease .F.A.O ,Rome .
- Hofstad, M. S. ; Calnek, B. N. ; Helmboldh, W.N. and Yoder, H.W .(1978) .Disease of Poultry 7th Ed. Iowa state University. Ames. Iowa. U. S. A.
- Hooper, P.T.; Hanson, E.; Young, J.G.; Russell, G.M; Dellaporta, A.L.(1999). Lesions in the upper respiratory tract in chickens experimentally infected with Newcastle disease virus isolated in Australia. Aust. Vet.J.77: 50-51.
- Huang, Z.; Krishnamurthy, S.; Panda, A. and Samal, S. K. (2003). Newcastle disease virus V protein is associated with viral pathogenesis and functions as an alpha interferon antagonist. Journal of Virology. 77(1): 8676-8685.

- Huang, Z.; Panda, A.; Elankumaran, S.; Govindarajan, D.; Rockemann, D.D. and Samel, S. K. (2004). The Hemagglutinin – neuraminidase protein of Newcastle disease virus determines tropism and virulence. J. Virol. 78(8): 4176-4184.
- Husain, A. (1980). Studies on evaluation of Newcastle disease vaccines production locally in broiler chickens. M. Sc. Thesis, University of Baghdad.
- Jacob. J.P; Butcher , G.D. and Mather , F.B. (2001) Vaccination . of small poultry flocks. University of Florida . Institute of food and Agricultural Sciences . Poultry view . com . Vaccination . htm. site http://hammock.ifas.ufl.edu.
- Jang, I. S., Y. H. Ko, H. Y. Yang, J. S. Ha, J. Y. Kim, J. Y. Kim, S. Y. Kang, D. H. Yoo1, D. S. Nam1, D. H. Kim and C. Y. Lee. (2004)Influence of Essential Oil Components on Growth Performance and the Functional Activity of the Pancreas and Small Intestine in Broiler Chickens. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 17:394-400.
- Jansen , T; Hofmans , M.P; Theelen , M.J. and Schijns, V.E. (2005) Structure- activity relations of water – in- oil vaccine formulations and induced antigen specific antibody responses . Vaccine .23(8) : 1053-1060.
- Jorden, F.T.W. (1990). Newcastle disease. In. Poultry disease. 3rd Ed. Bailliere Tindalli. London. Pp. 123-132.
- Kassab, A.K.(2005)."Poultry Housing"6th Ed. Iraqi Poultry Producers Association. AL-Essamy Printing. Coll. Vet. Med. Bagh. Uni. Iraq.40-50.
- KHAN, S. H., ANSARI, J., AHSAN, U. H. AND GHULAM, A. (2012). Black cumin seeds as phytogenic product in broiler diets and its effects on performance, blood constituents, immunity and caecal microbial population. Ital. J. Anim. Sci. 11: 438 – 444.
- Kho, C. L.; Mohdazmi, M. L.; Arshad, S. S. and Yusoff, K. (2002). Performance of an rt- nested PCR Elisa for detection of Newcastle disease virus. J. Virol. Methods. 86(1): 71-83.
- King, D. J. (2005). Newcastle disease. In: The Merck Veterinary manual .9th Ed , Eds by Kahn C. M.and Line.
- King, J; Afonso, C; Yu, Q; Estevez, C and Kim, M. (2005). Newcastle disease. Agricultural Research Service. Exotic and Emerging Avian Disease Research Unit, United States Department of Agriculture, USD.
- Koopman, R. (2008). IBV control, the broad way. Intervet International. Nobilis Company. Boxmeer, Netherlands. Poult. Bull., 5: 35-36.

- Llango , J .; Olaha ,M .; Mukibi ,M .; Abila , P . and Etoori ,A.(2005). Immunogenicity of alocaly producer Newcastle disease 1-2 thermostable vaccine in chicken in Uganda . Trop . Anim .Health .Prod .37(1) :25-31.
- Mass, R. A.; Komen, M.; Van diepen, M.; Oei, H. L. and Claassen, I. J. (2003). Correlation of haemagglutinin- neuraminidase and fusion protein content with protective antibody response after immunization with inactivated Newcastle disease vaccines. Vaccine. 12: 3137-3142.
- Meral,;Yener,Z.;Ozbek,H.;Ustun, R.(2003).Effect of Nigella Sativa L. On serum concentrations of thyroid hormones,Thyoid stimulating hormone and glucose in alloxan- Induced diabetic rabbits . Irish Vet . J. 56:462-464.
- Miller ,L .L.; Sirgel ,P .S .and Dunington ,E .A .(1992) .Inhertance of antibody response to sheep erythrocytes in lines of chickens divergently selected for fifty six day body weight and their crosses .Poultry Sci .71 :47-52.
- Morton, R. (2004). Newcastle diseases. Veterinary Officer, Animal and Plant Heath Service. Call web@dpi.qld.gov.au.
- Nagi , M. N. , Alam , K. , Badary , O. A. 1999 . Thymoquinone protects against carbontetrachloride hepatotoxicity in mice via an anti- oxivant mechanism. Biochemstry and Molecular Biology Inter- national . 47 (1) : 153 – 159.
- Nakamura ,K.; Ueda ,H .; Tanimura ,T .and Noguchi ,K .(2000).Effect of mixed live vaccine (Newcastle disease and Infectious bronchitis) and mycoplasma gallisepticum on the chicken respirator tract and on Escherichia coli infection .J .Comp .Pathol .111:33-42 .
- Ogasawara, T.; Gotoh, B.; Suzuki, H.; Asaka, J.; Shimokata, K; Rott, R. and Nagai, Y. (1998). Expression of factor X and its significance for the determination of paramyxovirus tropism in the chick embryo. EMBO. J. 11: 467- 472.
- OIE .(2005) Newcastle disease . World Organization for Animal Health . htt: // www.oie.int.
- OIE (2004) . Newcastle disease. The Center for Food security and Public Heath. Collage of veterinary medicine, Iowa state university.
- Olavs, D, Leo, Hartog, Guus, Koch and Ben, P.H. (2003). Effect of fusion protein cleavage site mutations on virulence of Newcastle disease virus: non virulent cleavage site mutants revert to virulence after one passage in chicken brain. J. Gen. virol. 84: 475-484.
- Oldoni, I.; Brown, C.C.; King, D.J.; Samal, S. and B.S. (2005). The use of in situ hybridization and immuno histochemistry to study the pathogenesis of

Various Newcastle disease virus strains and recombinants in embryonated chicken eggs. Microbe Pathog. National Library of Medicine.

- Oosterwijk, G.; Van Aken, D. and Vongthilath, S. (2003). A manual on improved rural poultry production . 1st ed, Department of livestock and fisheries, Ministry of Agriculture and forestry. Vientiane.
- Parede, L. and Yong, Y. L. (1990). The pathogenesis of velogenic New-castle disease virus infection of chickens of different ages and different level of immunity.Avian Dis.34: 803-808.
- Pringle, C.R and Heath, R.B. (1990) Paramyxoviridae In: Collier, L.H; Timbury, M.C., Topley and Wilsons principle of bacteriology, virology, and immunity. Vol 4. chap 4.14. kent, England; Pp: 286-7.
-
- Rahman , M.M.; Bari, A.S.; Giasuddin .; M, Islam , M.R .;Alam , J.and Sil , G.C. (2002) Evaluation of maternal and humoral immunity against Newcastle disease virus in chicken . International Journal of Poultry Sci. I (15) : 161-163.
- Ritchie , H. and Harrison ,S. (2004). Paramyxoviridae.Avian Medicine,Section. Five, Disease Etiologies.Pp.920- 928.(Cited by Urban Wildlifes Society .Org .
- Reynolds ,D. L . and Maraqa ,A.D .(2000) .Protective immunity against Newcastle disease the role of cell mediated immunity . Avian Dis .44:145-154.
- Ritchie , H. and Harrison ,S. (2004). Paramyxoviridae.Avian Medicine,Section. Five, Disease Etiologies.Pp.920- 928.(Cited by Urban Wildlifes Society .Org .)
- Russell, P.H (1998) . Immunity to respiratory disease.Poult Immunology. 24: 235-242.
- Russell , P.H. and Ezeifeka. G.O. (1995) . The Hichner B1strain of Newcastle disease virus induces high level of IgA, IgG and IgM in newely hatched chicks . Vaccine. 113: 61-66.
- Russell , P.H.and Koch. (1993). Local antibody forming cell response to the Hitchner B1 and vister strains of New castl disease virus . Vet. Immunol. Immunopathol. 37: 165-180.
- Seal, B. S. and King, D. J. (2005). Newcastle disease virus. Department of Agriculture. Agriculture Research Service. United states. http://www.Els.net.
- Senne, D. A; King, D.J.; Kapczynski, O. R. (2004). Control of Newcastle disease by vaccination. Developments in Biologicals (Basal) 119: 165-170.

- SOGUT, H., INCI, H. AND OZDIMIR, G. (2012). Effect of supplemented Black cumin (Nagella Sativa) on Growth performance and Carcass characteristics of Broilers. J. Anim. Vet. Adv. 11: 2480 –2484.
- Shnyrova, A.V.; Ayllon J.; Mikhalyov, I.I.; Villar, E.; Zimmerberg, J. and Frolov, V.A. (2007) . Vesicle formation by self-assembly of membrane-bound matrix proteins into a fluid like budding domain. J. Cell Bio., 179: 627-633.
- Spradbrow, P.S. (1998). Epidemiology of Newcastle disease and the economics of its control. Division of Veterinary Pathology and Anatomy, University of Queensland Brisbane, Australia.
- Sprodbrow , P.B.(2002).Newcastle disease- An overview. In: Basic Laboratory Manual for the small –Scale Production and Testing of I-2 Newcastle Disease Vaccine. Grimes, E.S. (2002).
- Steneroden, K.; Spickler, A.R. and Davis, R. (2004). Newcastle disease. (OIE) World Organization for Animal Health.. www.oie.int.J.E.and Reed, W.N. American Association of Avian Pathologists. U.S.A. Pp: 246-269.
- Stone , H; Mitchell , B.and Brugh , M. (1997) . In ovo vaccination of chicken embryos with experimental Newcastle disease and Avian influenza oil-emulsion vaccines. Avian Dis 14:856-863.
- Sturkie,D.H.D.(1986). Avian Physiology. 4th Ed. Springer Veraly. NewYork.
- Synder, D.B.; Marquardt, W.W.; Mallinson, E.T .and Russek, E. (1983). Rapid serological profiling by enzyme – linked immunosorbent assay. Measurement of antibody activity titre against Newcastle disease virus in a single serum dilution. Avian Dis. 72:161-170.
- Tabidi, M.H.; Makkawi, A.; Mahasin, E. and Ali, A. S. (2004). Comparative evaluation of haemagglutination inhibition test and enzyme – linked immunosorbent assay for detection of antibodies against Newcastle disease vaccine in broiler chickens. Inter. J. poult. Sci. 3(10): 668-670.
- Timms , L .and Alexander , D .J . (2003) . Cell mediated immune- respo-ns of chickens to Newcastle disease Vaccines . Avian Pathol . 6(1):51-59.
- Vaneck , J.H.H. (1987) Immunity to Newcastle disease in fowl of different breeds primarily vaccinated with commercial inactivated oil-emulsion vaccines .Alaboratory Experiment. Vet. 9: 296-303.
- Wambura ,P.N .;Kapaga ,A.M .and Hyera ,J.M .(2000) .Experimental trials with a thermostable Newcastle disease virus (strain 1-2) in commercial and village chickens in Tanzania .Preventive Veterinary Medicine .43 :75-83 .

- Waterville ,M .(2003) .Newcastle disease prevention and management ,Areview Main Biological Laboratories ,Marine ,U.S .A .Pp . 7-114 .
- WENK, C. (2003) Herbs and Botanicals as Feed Additives in Monogastric Animals. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 16:282-289.
- Wissman, A.M. (2002). Exotic Newcastle disease. DIP .ABVP .Avian Practice. htt:/www.Exotic.Pet.Vet .Net.
- Whittle, R. (2004). Newcastle disease. Animal and Plant Health Service. www.dpi.qld.gov.au. Servic.
- Yong, M.; Grimes, R.; Spradbrow, P, Dias, P.; Siwa, A. and Lobo, Q. (2002). Controling Newcastle disease ,Al aboratry manual in village chickens. Australian Center for International Agriculture Research http://www.aciar.gov.au.
- Zee ,Y.(2004) .Paramyxoviridae .In :Veterinary Microbiology . Eds by Dwinght ,C . and Yuan chug Zee.
- Zhao, H and Peeters, B.P. (2003). Recombinant Newcastle disease virus as a viral vector effect of genomic location of foreign gene on gene expression and virus replication. J. Gen.Virol. 84: 781-788.