وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية
كلية الطب البيطري

مرض النيوكاسل في الدواجن

مشروع تخرج مقدم إلى مجلس فرع الطب الباطني والوقائي - كلية الطب البيطري / جامعة القادسية في استيفاء جزئي لمتطلبات درجة بكالوريوس العلوم في الطب البيطري والجراحة.

من قبل الطالب
مشير علي هادي

بإشراف

حسن علي حمادي

2021م

بِسْمِ ٱللَّهِ ٱلرَّحْمَٰنِ ٱلرَّحِيمِ

فَتَعَٰلَى ٱللَّهُ ٱلْمَلِكُ ٱلْحَقُّ ۗ وَلَا تَعْجَلْ بِٱلْقُرْءَانِ مِن قَبْلِ أَن يُقْضَىٰٓ إِلَيْكَ وَحْيُهُۥ ۖ وَقُل رَّبِّ زِدْنِى عِلْمًا ﴿١١٤﴾

صَدَقَ اللهُ العَظِيمُ

من سورة طه

إقرار المشرف

أشهد أن إعداد هذه الدراسة (مرض النيوكاسل في الدواجن) قد تم اعدادها من قبل الطالب (مشير علي هادي) تحت اشرافي وهي جزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس بالطب والجراحة البيطرية.

المدرس
حسن علي حمادي
كلية الطب البيطري/ جامعة القادسية

اقرار رئاسة الفرع

نؤيد بأن الطالب(مشير علي هادي) قد أكمل البحث (مرض النيوكاسل في الدواجن) كجزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس في الطب والجراحة البيطرية.

مقرر المادة
ا.م.د مثنى هادي حسين

رئيس فرع الطب الباطني
ا.م.د سعد هاشم

إهـــــــــــداء

إلى..... المصطفى وآلة الاطهار(ص).

إلى..... الوالد يَّ الكريمين حفظهما الله.

وإلى..... روح جدي وجدتي رحمهما الله.

وإلى كل من ساهم في تلقيني ولو بحرف واحد في مسيرتي الدراسية.

"أُهدي لهم هذا العمل المتواضع"

مشير

شكر وتقدير

الشكر و الثناء الله عزَ و جل أولاً على نعمة الصبر و القدرة على إنجاز العمل ، فالله الحمد على هذه و أتقدم بالشكر و التقدير إلى استاذي الفاضل / الدكتور حسن علي حمادي الذي تفضل بإشرافه على هذا البحث ، و لكل ما قدمه لي من دعم و توجيه و إرشاد لإتمام هذا العمل على ما هو عليه فله أسمى عبارات الثناء و التقدير .

الخلاصة:-

مرض النيوكاسل من اهم الامراض التي تصيب الدواجن وتسبب لها خسائر اقتصادية كبيره .

تهدف الدراسه الحاليه الى التعريف بالمرض وتسليط الضوء على تاريخ المرض وانتشاره حول العالم، وحجم الخسائر الاقتصاديه التي يسببها مرض النيوكاسل، كما تطرقنا الى اهم العوامل الفيزياويه والكيمياويه والخصائص البايولوجيه للفايروس للاستفاده وكيفية التعامل مع المرض ولمعرفة مدى مقاومة فايروس الباراميكزو لهذه المواد.

بينت الدراسة ايضا اشكال المرض التي تتراوح ما بين الحاد حيث يسبب اعداد كبيره من الهلاكات الى الشكل الذي لا تظهر على الطيور المصابه اي اعراض ، كما استعرضت الدراسه طرق تشخيص المرض الحقلي والمختبري واهم الطرق السيرولوجيه والمصلية ، كما تطرقت الدراسه الى طرائق التلقيح والمناعة المتولدة وانواع اللقاحات الحية المضعفة والمقتوله والاستجابة المناعية

قـائـمـة الـمـحـتـويـات

الموضوع	الصفحة
الخلاصة	أ
المحتويات	ب
الفصل الاول	
1-1 المقدمة	1
الفصل الثاني	
2-1 مرض النيوكاسل	2
2-1 تعريف مرض نيوكاسل	2
2-2 تأريخ مرض نيوكاسل	2
2-3 العامل المسبب	3
2-3-1 تصنيف الحمه	3
2-3-2 شكل الحمه وتركيبها	3
2-4 الخصائص البايلوجية والفيزيائية للحمه	4
2-4-1 القابلية على تلزين خلايا الدم الحمر	4
2-4-2 خاصية تحرر الحمة عن سطح خلايا الدم الحمر	5
2-4-3 خاصية امتزاز خلايا الدم الحمر	5
2=4-4 خاصية التحلل الدموي	5
2-4-5 قابلية احداث البقع	6
2-4-6 خاصية انتاج الأنترفيرون	6
2-5 مقاومة الحمة للعوامل الفيزيائية والكيميائية	6
2-6 النمو والتكاثر	7
2-7 مدة الحضانة	8
2-8 انتشار المرض	8
2-9 الامراضية	9
2-10 اشكال مرض نيوكاسل	10
2-10-1 شكل دويل **Doyle's Form**	10
2-10-2 شكل بيج **Beachs form**	10
2-10-3 **شكل اسيكس Essex Form**	11
2-10-4 **شكل بيوديت Beaucettes Form**	11
2-10-5 **شكل هيشنر Hitchiners Form**	11
2-10-6 **الشكل اللاعرضي Asymptomatic Form**	12
2-11 توصيف الضراوة حمة مرض النيوكاسل	12
2-12 مؤشرات الضراوة	14
2-13 علامات سريرية	15
2-14 الأفة المرضية	16

2-15 تغيرات نسيجية	**16**
2-16 التشخيص	**17**
2-16-1 التشخيص الحقلي	**17**
2-16-2 التشخيص المختبري	**17**
2-16-2-1 عزل الحمة	**17**
2-16-2-2 تنمية الحمة	**18**
2-16-2-3 الاختبارات المصلية	**18**
2-16-2-3-1 اختبار التلازن الدموي HA test	**18**
2-16-2-3-2 اختبار اثباط التلازن الدموي HI test	**19**
2-16-2-3-3 تقنية الأنزيم المناعي الممتز غير المباشر ELISA	**21**
2-16-2-3-4 اختبارات التعادل المصلي	**21**
2-16-2-3-5 اختبار الاستشعاع المناعي	**21**
2-16-2-4 اختبار التحدي (Challenge Test)	**22**
2-17 المناعة ضد مرض نيوكاسل	**22**
2-17-1 المناعة الفعالة Passive Immunity	**22**
2-17- 2 المناعة الخلوية (Cell Mediated Immunity)	**23**
2-17-3 المناعة الخلطية Humeral Immunity	**23**
2-17-4 المناعة الموضعية	**24**
2-18 التمنيع	**25**
2-19 انواع اللقاحات	**26**
2-19-1 اللقاحات الحيه	**27**
2-19-1-1 اللقاحات الحية ضعيفة الضراوة	**27**
2-19-1-2 اللقاحات الحيه متوسطة الضراوة	**27**
2-19-2 اللقاحات المبطلة	**27**
2-20 طرئق التلقيح	**28**
2-20-1 طريقة التلقيح بالرش	**28**
2-20-2 طريقة التلقيح بالتقطير بالعين والمنخرين	**29**
2-20-3 طريقة التلقيح بماء الشرب	**30**
2-20-4 طريقة التلقيح بالعلف	**30**
2-20-5 طريقة التلقيح بالحقن	**31**
2-20-6 طريقة التلقيح الحقن بالبيض المجنن	**31**
الفصل الثالث	
الاستنتاجات والتوصيات	**33**
الفصل الرابع	
المصادر	**34**

الفصل الاول

1-1 المقدمة

يعد مرض نيوكاسل من الامراض شديدة الخطورة، اذ يصيب الطيور الداجنة وطيور الزينة والطيور البرية وتختلف اشكال المرض بين الشكل غير الظاهري والخفيف الى الشديد المتمثل بالهلاك المفاجئ لذا عُد من الامراض البالغة الاهمية على نطاق واسع في انحاء الباحث بسبب الخسائر الاقتصادية الجمة في صناعة الدواجن (Huang et al , 2004). صنف مسبب مرض نيوكاسل كأحد افراد عائلة حميات البارامكزو ودرست صفاته باسهاب حيث قامت العديد من المختبرات البحثية المتخصصة بدراسة العديد من العتر لهذه الحمة التي تضمنت بعض العتر المعزولة حديثاً وقد تبين ان هناك اختلافات واضحة من حيث الامراضية التي تحدثها العتر المختلفة ومع ذلك فان جميع عتر حمة مرض نيوكاسل لايمكن تميزها عن بعضها البعض من حيث الشكل والتركيب ومن الناحية المصلية (Saville , 1996). ولقد تسببت العترة الضارية في حدوث ثورات مرضية في انحاء شتى من العالم اشملت على اسيا ، وافريقيا ، وامريكا ، وامريكا اللاتينية ، وبريطانيا ، واستراليا (King et al , 2005). اما في منطقة الشرق الاوسط بدأ المرض يأخذ شكلاً ضارياً في نهاية الستينيات من القرن الماضي، وفي العراق سجل المرض لأول مرة عام 1935 (Alexander & Allan, 1974)، اما شكل المرض الضاري الاحشائي فقد عرف في مناطق مختلفة من العراق من خلال حدوث ثورات مرضية في افراخ اللحم، والبياض وصلت الى اكثر من (90%) (1997، زاهد) حيث عزلت عترة (AG68) عام (1968) في منطقة ابو غريب ثم ضعفت هذه العزلة بواسطة التمرير المتكرر على اجنة الدجاج، واستخدمت كلقاح حي مضعف، واعطت نتائج جيدة واستخدمت العتر اللقاحية المختلفة ضمن برنامج وقائي مدروس للسيطرة على المرض، وبالرغم من ذلك لازالت الثورات المرضية تحدث بين الحين والاخر اما بسبب حدوث طفرات وراثية ، او نتيجة الاستخدام الخاطئ للقاحات (Basher et al , 1991) ، كما استخدم العديد من الباحثين اللقاحات المقتولة في البرامج اللقاحيه (Eraganis et al , 1997)، وفي السنوات الاخيرة وضعت ستراتيجيات مختلفة لبرامج التلقيح فاستخدام اللقاح المقتول المسبوق باللفاح الخي في المناطق الموبؤة الاكثر عرضة للخمج بالمرض ، وجعلها قادرة على المقاومة المبكرة للخمج بالحمة الضاريه (2004 ،عكار)، كما استخدام اللقاح المركب الحاوي على اكثر من مستضد مثل لقاح مرض نيوكاسل، متلازمة نقص البيض ،مرض الكمبورو (Jacob et al , 2001)، واستخدمت تقنية التلقيح بالاجنة ضد مرض ميرك ، نيوكاسل ، كمبورو في اوربا وامريكا، واستطاعت العديد من دول العالم المتطورة في صناعة الدواجن وتحت ظروف اقتصادية مشجعة الحد من انتشار المرض بدرجة

يمكن فيها تحجيم خطورته باستخدام برامج التلقيح المكثف والتعقيم والامن الحيوي والإدارة الجيدة، واعدام الحالات المريضه والتخلص من الهلاكات بصوره علميه (Erganis, 2003). لكن في الدول الاقل تطوراً لازالت المشكلة قائمة ومنها العراق (OIE, 2004)، مما ادى الى استمرار حدوث ثورات شديدة للمرض بالرغم من تطبيق كافة البرامج اللقاحية منها اللقاح المبطل الزيتي المسبوق بلقاح حي (1999 ،زاهد)، كما انجزت العديد من البحوث حيث اشارت النتائج بالتوصية بأنتاج لقاحات من العتر المحلية المعزولة (2004 ،عكار) اذ ستولد استجابة مناعية كافيه للحماية ضد الخمج بحمة مرض نيوكاسل الضاريه (2004 ،علاوي).

الفصل الثاني

2-1 مرض نيوكاسل

1-2-1 : تعريف المرض : مرض نيوكاسل من أشد الأمراض الوبائية القاتلة التي تصيب جميع أنواع الطيور الداجنة ، و انواع عديدة من الطيور البرية (2002 ، Young et al.) بينما لايصاب البط ويعتبر عاملا ناقلا ويعد الدجاج الأكثر استعدادا للاصاب بالمرض واظهار العلامات السريرية وقد تسبب المرض بظهور كثير من الأوبئة في مناطق كثيرة من العالم والحاق خسائر أقتصادية كبيرة في قطاع أنتاج الدواجن، اذ يمكن أن تصل نسبة الهلاكات إلى 100 % في القطعان الحساسة للخمج بالمرض مع قلة أو انعدام انتاج البيض في القطعان البياضة (2004 ، Rahman . etal). وقد تم عزل وتشخيص العديد من العتر وصنفت أعتمادا على الضراوة الى عتر ضارية (velogenic strain) وعتر متوسطة الضراوة (mesogenic strain) والضعيفة الضراوة (lentogenic strain) (Huang et al . , 2004) . وكذلك تم تصنيفها حسب ميلها لأصاية أجهزة الجسم الي عثر أحشائية و عصبية وتنفسية . كما يعتبر مرض نيوكاسل من الأمراض المشتركة التي تصيب الإنسان ويؤدي إلى التهاب الملتحمة Conjunctivitis ولكن لاينتقل من شخص لاخر (Alexander et. al 2004).

2-2 تاريخ المرض

مرض نيوكاسل من الأمراض الفايروسية المعدية سريعة الانتشار يصيب معظم انواع الطيور حيث ظهر لأول مره سنة 1926 في مدينة جاوة في أندنوسيا وفي مدينة نيوكاسل في انكلترا والتي أشنق الاسم منها، يعد هذا المرض من الأمراض المستوطنة في العراق حيث عزلت الحمة في عام 1968 منطقة أبو غريب، وكذالك تمكن الباحث زاهد 2003 من عزل حمه مرض نيوكاسل في العراق (2005 فارس) .

3-2 العامل المسبب

1-3-2 تصنيف الحمة

صنفت حمة مرض نيوكاسل على أنها أحد إفراد عائلة Paramyxoviridae العائدة إلى ما فوق العائلة Paramyxovirina أن عائلة Paramyxoviridae تضم تحت العائلة Pneumovirinae التي تشتمل على جنس ال PentiVirus وتحت العائلة Paramyxovirinae التي تشتمل على جنس ال Pirimyxovirus و Morbillivirus و Rubulavirus و يضم جنس الربيولا انماط مصلية من (1-9) تنتمي حمة نيوكاسل الى النمط المصلي الأول (Rima et al , 1995) .

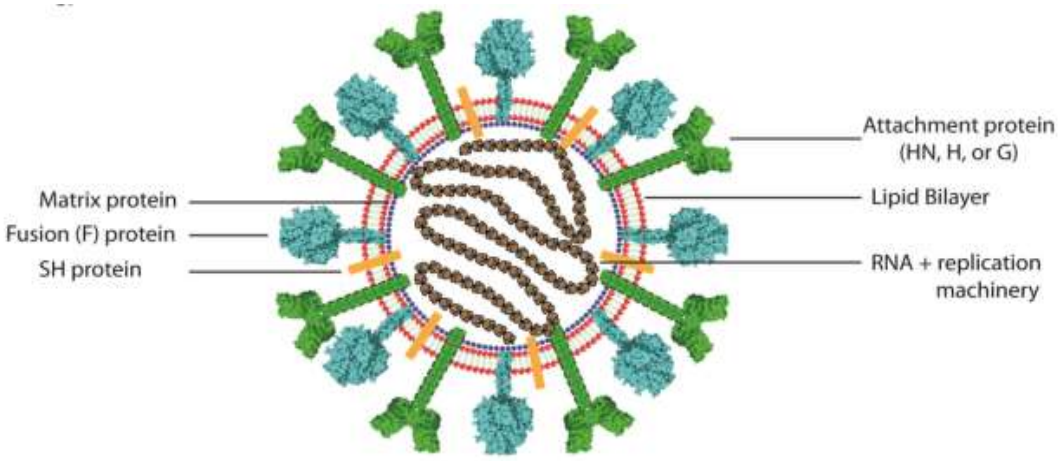
2-3-2 شكل الحمة وتركيبها

تمتاز حمة مرض نيوكاسل بأشكالها المتغايرة Pelomorphic لكن الشكل الخيطي ، والكروي هما الأكثر شيوعا ، ويتراوح قطر الحمه Virion من 100 - 500 نانوميتر , تحتوي الحمة على المادة الوراثية (Genome) ، وهو عبارة عن شريط مفرد للحامض النووي الرايبي RNA السالب القطبية Negative polarity وغير المقسم (Oldoni et.al; 2003) وتحاط بغلاف بروتيني شحمي ويحتوي هذا الغلاف على بروتينات سكرية (Glycoprotein) سطحية الموقع فعاله تكون على شكل نتوءات جانبية قصيرة على السطح أشبه بالأشواك (Alexander, 2001)

Spike احدهم هو البروتين السكري المسؤول عن التصاق بمستقبل الخلية (Haemagglutinine & Nuraminidase- HN)ويعتقد أن له دور في الضراوة (Huang et al; 2005)ويحتوي على جزيئات كبيرة حاوية على حامض السياليك (Sialic Acid) اما البروتين السكري الأخر فهو بروتين الالتحام والمسمى F- (Protein) وهو المسؤول عن التحام الحمة بالخلية المضيفة (Oosterwijk et al ;2003) .

والحامض النووي للحمة مؤلف من (6) موروثات تشفر لست سلاسل من متعدد المبيدات اثنتان منها مضاف اليها السكر (Westbury,et.al.; 2001) Glycosylated حيث تشفر لستة بروتينات حمية كبيرة في البروتين الفوسفاتي)

(Pp Phosphorylated Nucleo Capsids، وبروتين خميرة البلمرة الموجه بالحامض النووي الرابيي Lp RNA Directed RNA Polymerase وبروتين المحفظة النووية (NP Nucleocapside Protein ، والبروتين البيني) MP Matrix Proteinالمحيط بالبروتين النووي اضافة الي بروتين التلازن الدموي ، والشطف (HN) الذي يمثل اكبر بروز على سطح الحمة الناضج المسؤول عن الالتصاق وتحرير الحمة من الخلية المخمجة، وبروتين الالتحام Fusion Protein الذي يؤدي دورا مهما بالأمراضية بالإضافة الى دوره في حل خلايا الدم الحمر (Oosterwijk et al ;2003).



4.2 الخصائص البيولوجية والفيزيائية للحمة

لحمة مرض نيوكاسلا خواص بابولوجية وفيزيائية تميزها عن بقية حمات Paramyxovirus ويمكن تميز عتر الحمة عن بعضها البعض بوساطة عدة خصائص تشمل :

2 4- 1 القابلية على تلزين خلايا الدم الحمر

اول من وصف هذه الخاصية الباحث (Burnet,) 1942 اذ وجد أن عملية التلازن تثبط بوساطة المصل المضاد الخاص Specific antiserurn, ولعتر الحمة القابلية على تلزين خلايا الدم الحمر للبرمائيات وبعض اللبائن كالفئران، خنزيرغينيا والإنسان (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 للحرارة وقابليته لاحداث تلازن خلايا الدم لبعض انواع الثدييات ولكن هذه الاختلافات لا ترتبط بعلاقة مباشرة مع شدة ضراوة عتر حمة مرض نيوكاسل المختلفة(Hanson,1972).

2-4-2 خاصية تحرير الحمة عن سطح خلايا الدم الحمر

تتم هذه الخاصية بتحطيم المستقبل الموجود على سطح الخلية بواسطة خميرة Neuraminidase وتسمى هذه الخاصية بالشطف، وتتأثر هذه الخاصية بانخفاض درجة الحرارة دون (37) درجة مئوية، ومدى ضراوة العترة اما الخلايا التي شطفت تفقد قابليتها للتلارن مرة ثانية مع النوع نفسه من الحمة مع احتفاظها بخاصية التلازن مع نوع اخر من الحمات (Hassan et al, 2000).

3-4-2 خاصية امتزاز خلايا الدم الحمر

هي عبارة عن التصاق RBCs على سطح الخلايا المخمجة بالحمة (OIE 2005) ولقد وجد أن هذه الخاصية يمكن اثباطها عند استعمال مثبطات انتاج البروتين الحمي الخاص وان سرعة امتزاز الخلايا الحمر تعتمد على عتر الحمة، فالخلايا المخمجة بالعتر ضعيفة الضراوة تستغرق وقتا أطول للامتزاز عما تستغرقه الخلايا المخمجة بالعتر الضارية، ويعتقد أن سبب الاختلاف يعود الى كمية الأنتجين المنتج من مختلف عتر الحمة الموجود على جدران الخلايا المخمجة (Robert et al, 2002).

4.4.2 خاصية التحلل الدموي Hemolysis

لحمة مرض نيوكاسل القابلية على حل خلايا الدم الحمر التي تلزنت ، ويعتقد أن العامل المسبب لتحلل خلايا الدم منفصل عن المستضد الملزن لخلايا الدم فعند فصل المستضد الذي يحدث التلازن بمعاملته بالايثر قانه لا يملك خاصية أحداث التلازن , ويعود سبب التحلل الى تكسر جدران الخلايا الحمر، وتحرر الهيموكلوبين وتمتلك

حمات اخرى هذه الخاصية مثل حمة النكاف، الحصبة، وحمة البارانفلونزا (Alexander, 1997).

2-4-5 قابلية احداث البقع Plaque Formation

للحمة القابلية على احدث انواع من البقع على أوساط الزرع النسيجي مثل خلايا الأرومة الليفيةFibroblast وخلايا الكلية لأجنة الدجاج وتكون اما شفافة (Clear) (اذا كانت الخلية قد دمرت كليا أو جزء كبير منها ، او كدرة (Turbid) اذا دُمر جزء قليل منها ، واستخدمت هذه الخاصية لتوصيف ضراوة لحمة حيث ان قابلية حمة مرض نيوكاسل لأحداث البقع تتناسب مع شدة ضراوته فالعتر الضارية تنتج انواعا من البقع مختلفة الأحجام على خلايا الزرع النسيجي بينما العتر ضعيفة الضراوة ليست لها هذه القابلية (Thayer and Beard, 1998) .

2 .4 .6 .خاصية انتاج الانترفيرون

وجد أن لحمات مرض نيوكاسل الحية والخاملة القابلية على انتاج الأنترفيرون ولكن هناك فروقات في كمية الإنترفيرون المنتج حسب العتر، فالعتر الضارية تنتج كميات كبيرة، اما العتر الضعيفة فتنتج كميات أقل (Jayawarden and Spradbrow, 1995).

2-5 مقاومة الحمه للعوامل الفيزيائية والكيميائية

هناك عدة عوامل فيزيائية قد تضعف خمجية حمة مرض نيوكاسل مثل درجة الحرارة حيث وجد ان الحمه تفقد خمجيتها بصورة كلية بدرجة حرارة (100) درجة مئوية خلال دقيقة، وبين 5-6 ساعات تفقد خاصية التمنيع (Immunogencity) وخاصية التلازن ب56 درجة مئوية ومن العوامل الأخرى التعرض للأشعة فوق البنفسجية، الأس الحامضي، عملية الأكسدة ، أما العوامل الكيمياوية مثل الفورمالين ، الفينول ، بينا- بروبيولاكتون فلها القابلية علي ان تدمر خمجية الحمة المحافظة على خاصية التمنيع ضمن تراكيز معينه ومن الجدير بالذكر

انه يمكن حفظ الحمه في جثث الطيور المخمجة والمجمدة عده سنوات (Alexander,2003).

6-2 النمو والتكاثر

لحمة مرض نيوكاسل قابلية النمو على انواع مختلفة من خلايا الزرع لنسيجي مثل:

1 - الخلايا الأولية لكلية جنين الدجاج Primary Chick Embryo Kidney cell تنمو كل عزلات الحمة على كلية جنين الدجاج .

2 -الأورمات الليفية الأولية لاجنة بيض الدجاج Primary Chick Embryo Fibroblastتحتاج العتر ضعيفة الضراوة الى اضافة انزيم البروتيز حتى تتكاثر لكن العتر المتوسطة الضراوة لا تحتاج لمثل هذه الاضافة .

3- كلية صغار حيوان الهامستر (Robert et al . , 2002) .

من مظاهر الاعتلال المرضي التي يسببها نمو الحمة على خلايا الزرع النسيجي تنخر الخلايا، أو ملكها ، وتكوين البقع plaques بانواعها المختلفة ، (Rojs et al.;1994)، وتمتاز العتر الضارية والمتوسطة الضراوة بسرعة تكوين البقع أما العتر الضعيفة ليس لها القابلية على إحداث البقع بغياب التربسين، المغنيسيوم والأثيل الأميني ثنائي الاثيل Diethylaminoethyl كذلك تنمو حمة مرض نيوكاسل على أجنة بيض الدجاج النامية، وهي الطريقة الأكثر حساسية لنموها وتعد إحدى الطرائق التشخيصية لها (Alexander;2003) وقد استخدمت اجنة الدجاج النامي بعمر (9-11) يوما في تنمية وتكثير حمة مرض نيوكاسل منذ عام 1934 من قبل الباحثين (Burnet & Ferry) وحتى اليوم واستخدمت الأجنة لقياس ضراوة الحمة ، وتتكاثر عزلات حمة مرض نيوكاسل في تجويف الالنتويس لجين الدجاج بعمر (9-11) يوما فالعتر الضارية والمتوسطة الضراوة تنمو في الخلايا المبطنة للطبقات الثلاث لغشاء الالنتويس متسببا بخمج خلايا الجنين ومؤدية الى هلاكه في مدة أقصاها أربعة أيام بعد الحقن أما العتر الضعيفة، فليس بمقدورها أجتياز غشاء

الالنتويس (Yong et al ، 2002)، لذا يبقى الجنين حيا بعد أربعة أيام من الحقن ، وهناك عدة عوامل تؤثر على نمو الحمة مثل عمر الجنين ، نوع العترة، طريقة الحقن فالحقن في كيس المح يسبب هلاك الجنين بسرعه مقارنة مع طريقة الحقن بكيس الالنتويس واستخدمت هذه الطريقة لقياس الضراوة فالعتر الضارية لها القابلية على قتل الجنين بوقت أقل مما تستغرقه العتر الأقل ضراوة , Chansiripornchai) N & Sasipreeyjan , JA 2006)

2- 7 مدة الحضانة Incubation Period

تكون مدة الحضانة بعد التعرض لحمة مرض نيوكاسل بين (2-15) يوما ، أو أكثر وبمعدل (5-6) ايام وهناك عدة عوامل تؤثر على طول، أو قصر هذه المدة منها عمر الطير، مدي ضراوة العترة، الجرعة، طريقة دخول الحمة، الحالة المناعية للطير، التعرض المسبق للحمة . (Ritchie and Harrison,2004)

2-8 انتشار المرض

يعد مرض نيوكاسل من الأمراض الخطيرة سريعة الانتشار وبطرائق عديدة مباشرة كالتلامس بين الطيور السليمة والطيور المخمجة، أو غير مباشرة تعتمد على العضو الذي تتكاثر فيه الحمة فالأخماج التنفسية تحصل عن طريق استنشاق الرذاذ الملوث أو الهواء الملوث بالافرازات في حين أخماج الجهاز الهضمي تحمل عن طريق تناول الأعلاف أو المياه الملوثة بفضلات الطيور المخمجة، وتؤدي الرياح والعوامل البيئية دورا هاما في انتشار المرض من المواقع الموبوءة إلى القطعان السليمة ويعد دخول الحمة عن طريق المسالك التنفسية أكثر خطورة في نشر المرض مما لو كان عن طريق الجهاز الهضمي (Ailleo et al 2003) ويؤدي الإنسان دورا مهما في نقل المرض، وبصورة غير مباشرة من خلال تلامسه مع المواد الملوثة بفضلات الطيور الداجنة المخمجة واكثر المعرضين للخمج ونقله هم الأطباء البيطرين ، عمال جمع البيض، فرق التلقيح وقص المناقير (OIE ، 2004) وتساعد بعض الحيوانات التي تتغذى على الطيور المخمجة في نشر الحمة مثل الكلاب ، القطط ، الثعالب ،

القوارض ، الخنازير وكما تلعب الطيور البرية والمهاجرة، وطيور الزينة دورا مهما في نقل المرض لاسيما اذا كانت مقاومة للخمج، ويكون دورها عاملا ناقلا دون اظهار المرض مثل البط والوز (Nakamura et al; 2000)، وتؤدي اللقاحات الملوثة بالحمة والطيور الملقحة دورا في حدوث الخمج اذ تطرح الطيور الحمة مع الفضلات والافرازات التنفسية لمدة (14-17) يوما، اما بالنسبة للبيض الملوث بالحمة فهناك دلائل تشير إلى أن من الممكن أن تفقس الأجنة في حالة الخمج بالعتر الضعيفة مؤدية إلى انتشار الخمج للأفراخ الفاقسة الأخرى (Cullen G.A. & Wyeth P.J. 1998) .

9-2 الإمراضية Pathogenicity

تقاس الأمراضية بقابلية الحمه على أحداث الخمج كالعلامات العصبية مثل الشلل ، والرعشة ، والتواء الرقبة والعلامات التنفسية التي تكون اما واضحة أو قليلة، تتأثر شدة الخمج بحمة مرض نيوكاسل بعدة عوامل منها ضراوة العترة، الجرعة، عمر الطير، طريقة دخول الحمة والحالة المناعية للطير، وتختلف العتر بميلها لخمج الأنسجة المختلفة لكن معظمها عزلت من القصبة الهوائية، والمجمع فبعض العتر غير الضارية تصيب الأمعاء فقط ويحدث الخمج عن طريق دخول الحمة الجهاز الهضمي من خلال تناول الطير المواد الملوثة ، أوعن طريق الجهاز التنفسي، ثم يحصل لها تكاثر في منطقة دخولها، ثم تصل الى جهاز الدوران خلال 24 ساعة وتمتاز الحمة بميلها تجاه خلايا الدم الحمر التي تسمح لها بالانتشار من خلال جهاز الدوران وبوجود الحمة بالدم يؤدي إلى حدوث Viremia ، وتنتشر الى معظم الأعضاء الداخلية وتتكاثر في الأعضاء المفضلة، وهي الجهاز الشبكي البطاني وخاصة الطحال، اذ يرتفع معيار الحمة في هذه الأنسجة و يصل أعلى معيار لها بعد(3-4) يوما ومن ثم تعود الحمة الى الدم مرة ثانية، ولكن بتركيز اعلى مسببه المرحلة الثانية من ال Viremia التي يصاحبها ظهور العلامات السريرية والتغيرات المرضية في الأحشاء الداخلية (Alexander ،2003) اما الاستجابة المناعية الخلطية فتبدأ حال تحفيز الخلايا اللمفية ، ولكنها لا تظهر قبل اليوم الرابع

وغالبا تلاحظ بعد اليوم السابع (Glaucia et al; 2001). وتتميز العتر ضعيفة الضراوة بأن حجمها المعياري عالي في منطقة دخول الحمة عكس العتر الضارية التي تسبب تغيرات كثيرة عند تكاثرها في الأحشاء الداخلية (Alexander 2003). العتر الضارية لها القدرة على تحطيم الحاجز الدموي الدماغي والمرور خلاله مما يؤدي الى تحطيم الخلايا المبطنة للأوعية الدموية وخلايا المتن، بينما العتر المتوسطة والضعيفة الضراوة ليس لها القدرة على تحطيم هذا الحاجز، ويسبب التصاق لحمة تلف بطانة الأوعية الدموية، مما يؤدي إلى صعوبة التنفس نتيجة التلف لمركز التنفس وحدوث نزف حبري واحتقان الرئتين (Mayo ، 2002).

2- 10 اشكال المرض

تصنف اشكال مرض نيوكاسل اعتمادا على العلامات السريرية والتغيرات المرضية العيانية، والعتر المسببة للمرض الي (6) أشكال (Alexander , 1997)

2 - 10 -1 شكل دويل Doyle's Form

يسمى ايضا بالشكل الاسيوي (Asiatic Form) ، أو مرض نيوكاسل الأحشائي الذي تسببه عتر ضارية له ميل لخمج الأحشاء الداخلية Viscerotropic) (Velogenic Strain ويصيب الطيور بجميع الأعمار مسببا هلاكات قد تصل الى (100 %) في الأفراخ غير الملقحة ، ويتميز هذا الشكل بوجود تقرحات نزفيه في المعدة الحقيقية والقانصة والجريبات اللمفية في الأمعاء ومنطقة اللوز الاعورية ومن اهم علاماتها السريرية الاسهال الاخضر الممزوج أحيانا بالدم. (Ritchie & Harrison , 2004)

2 - 10 - 2 شكل بيج Beachs form

تسبب هذا الشكل عتر ضارية لها ميل لخمج الجهاز العصبي Neurotropic Velogenie Strains ومن الأمثلة على هذه العتر Milano , texas ، ويمتاز هذا الشكل بكونه من النوع الحاد الذي يصيب الطيور بجميع الأعمار ويتسبب

بظهور علامات تنفسية وعصبية Pneumoencephalitis ومن اهم العلامات العصبية المميزة لهذا الشكل التواء الرقبة ، وارتجاف العضلات مع شل كلي أو جزئي للاجنحة او الأرجل ، ويمتاز بعدم وجود تقرحات نزفية في الجهاز الهضمي (Whitle, 2004) .

2 - 10 - 3 شكل اسيكس Essex Form

أيضا يعرف بالشكل الاسيوي Asciatic Form ، ويمتاز بوجود الخمج في الجهاز التنفسي بصورة رئيسة، وقد يسبب هلاكات تصل الى 90 % في الطيور المخمجة(Higgns , 1998).

2 - 10 - 4 شكل بيوديت Beaucettes Form

تسببه عتر متوسطة الضراوة مثل عترة (Roankin, Kormarov)، وقد شخص الباحث بيوديت (1946) هذا الشكل لأول مرة، ويمتاز بظهور علامات تنفسية في جميع الأعمار تليها علامات عصبية لاسيما في الأفراخ صغيرة الإعمار، ولا يسبب هلاكات عالية في الدجاج البالغ ولكن قد تصل الى 50% في حالة وجود اخماج ثانوية، أهم التغيرات المرضية احتقان الأكياس الهوائية وعتامتها، وقد تحتوي على نضح أصفر، واحتقان الرغامي (Alexander, 2003).

2 - 10 -5 شكل هيشنر Hitchiners Form

شخصه اول مرة الباحث هيشنر1950 تسببه عتر ضعيفة الضراوة Lentogenic Strain التي غالبا ما استخدمت في انتاج اللقاحات الحية المضعفة مثل (F, Lasota)، ويمتاز بوجود علامات تنفسية طفيفة في الأفراح صغيرة العمر، ولا تلاحظ أية علامات عصبية أو هضمية انما يتسبب بهبوط مفاجئ في انتاج البيض ومن أهم التغيرات المرضية التهاب الرغامي الخفيف، والتهاب الاكياس الهوائية , Higas (1998).

2- 10 - 6 الشكل اللاعرضي Asymptomatic Form

يتميز بعدم ظهور علامات سريرية على الأفراح 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)

2 - 11 توصيف ضراوة حمة مرض نيوكاسل

تظهر عتر الحمة اختلافات واسعة في الضراوة على الرغم من وجود نمط مصلي واحد ,كذلك تتميز بوجود اختلافات مستضدية Antigenic Variation، الا انه لا يمكن تصنيف العتر على اساس هذه الاختلافات (Zahid,1997) وتقسم عتر الحمة حسب شدة المرض الى:

1)عتر ضارية(Velogenic Strains)

2)عتر متوسطة الضراوة(Mesogenic Strains)

3)عتر طفيفة الضراوة(Lentogenic Strains)

(Stone , 1988)

تختلف العتر بميلها لخمج اجهزة الجسم فمنها من يصيب الأحشاء الداخلية (Viscerotropic)، واخرى لها ميل لخمج الجهاز العصبي (Neurotropicبينما تميل عتر اخرى لخمج الجهاز التنفسي Pneumotropic, وتتشابه كل العتر الحشوية الضارية بقابليتها على قتل الجنين بمدة قصيرة ، احداث آفات حشوية تكوين البقع الحمر والشفافة وتختلف في الخصائص الاتية:

1. معدل الشطف Rate of elution
2. الثبات الحراريThermostability
3. الأمراضية للدجاج البالغ. (Alexander, 2003).

2 - 12 مؤشرات الضراوة Pathogenicity Indexes

هناك عدة مؤشرات تحدد من خلالها ضراوة عتر حمة مرض نيوكاسل وهي :

1- متوسط الوقت اللازم لقتل أجنة الدجاج Mean Death Time

بعد حقن البيض المجنن بعمر (9- 11) يوما وجد أن متوسط الوقت اللازم لقتل الأجنة هو 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 وتراقب لمدة (7-10) أيام وتعطى علامتان للفرخ الهالك، وعلامة واحده للفرخ الذي تظهر عليه علامات المرض وصفر للفرخ الذي لا تظهر عليه علامات المرض خلال (10) أيام من تاريخ الحقن (Spradbrow, 1996).

3- المؤشر المرضي عند الحقن بالوريد Intravenus Pathogenicity Index

تحقن افراخ بعمر (4-6) أسابيع بالوريد، وتراقب العلامات السريرية وتعطي ثلاث علامات للفرخ الهالك، وعلامتان للفرخ الذي تظهر عليه علامات سريرية، وصفر للفرخ الذي لا تظهر عليه علامات مرضية (Spradbrow, 1996).

4 - المؤشر المرضي عند الحقن في المجمع (Intra cloacal Pathogenicity Index)

يجري مسح الغشاء المخاطي المبطن للمجمع بالعتر الضارية لأربعة أفراخ بعمر (6-8) أسابيع (OIE ، 2002) وتراقب لمدة (10) ايام، وتصنف العترة على انها ضارية اذا أظهرت الأفراح العلامات السريرية ثم الهلاك وتعطي (4) علامات في حالة وجود وذمة في الرأس ، والعنق ونزف في منطقة القصبات مع تنخر في الأمعاء (3) علامات في حالة آفات في الأمعاء والجهاز التنفسي وعلامتان (2) في حالة وجود علامات مميزة في منطقة المجمع، وتعد العترة من النوع الضاري

الأحشائي اذا اظهر أحد الأفراخ الأربعة (4) علامات او اثنين من الأفراح اعطت (2) أو (3) علامات (Alexander ، 2003) .

تعد هذه المؤشرات من الفحوص سهلة الاستعمال لكنها غير عملية لأنها تستغرق وقتا الاظهار النتيجة، ولقد ظهرت حديثا اختبارات اكثر دقة وعملية لكنها في مراحل التطوير وتعتمد على الكشف عن الجبن المشفر لترتيب القواعد النتروجينية Nucleotide Sequence Cod في موقع الانشطار للبروتين(confer,A.et.al.;2008)، كما اعتمدت العديد من الدراسات على التقنيات الجزيئية (Molecular techniques) مثل اختبار الترجمة العكسية لسلسلة متعدد الببتيد (Reverse transcription polymerase chiain reaction test) الذي يعتبر من الأختبارات الحساسة جدا للكشف عن تسلسل الحوامض الأمينية في موقع الانشطار البروتين للمسبب المرضي في الأنسجة المخمجة او في فضلات الطيور المخمجة ويعتبر وجود العديد من الأحماض الأمينية الأساسية في موقع الانشطار دليل على الضراوة (OIE ، 2002) ولقد وجد عند استخدامها في اختبار التلازن الدموي يتم التعرف على الحمة بسرعة بدون حدوث تفاعلات جانبية بين الانواع المصلية لعائلة البارامكزوفاريدي، وقد استخدمها العديد من الباحثين للتفريق بين العتر اللقاحية الشائعة مثل lasota , B1 وكذلك بين العتر اللقاحية ، والحمة المستوطنة في المنطقة الجغرافية (Alexander ، 2000) .

2 -13 العلامات السريرية Clinical Signs

يعتمد ظهور العلامات السريرية على عدة عوامل منها عمر الطيور، العترة، الجرعه وضراوتها، نوع الطيور، الظروف البيئية المحيطة، الإجهاد والحالة المناعية للطير (Alexander, 2001) وتشتمل العلامات السريرية على 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 ومن

العلامات الهضمية الإسهال الأخضر الذي قد يصاحبه في حال الخمج بالعترة الأحشائية الضارية التي تسبب التهاب القناة الهضمية، وتشتمل العلامات العصبية على التارجح في الحركة وارتجاف العضلات ، وشلل الأرجل واحيانا الأجنحة . أما التواء الرقبة فيظهر في حال اذا طالت مدة المرض ، وقد يحدث الهلاك سريعا بعد (1-3) ايام من ظهور العلامات السريرية (Whittle ، 2004) وتسبب العتر الضارية بظهور المرض بصورة مفاجئة وحدوث نسبة هلاكات عالية قد تصل إلى 90 % أو أكثر وظهور علامات تنفسية، إسهال أخضر والطيور التي تظهر علامات عصبية ولم تنفق نادرا ما تشفى وتبقي مشلولة (Spradbrow , 1996) أما العتر متوسطة الضراوة فإنها تسبب بحدوث علامات تنفسية في الطيور صغيرة العمر ، أما الخمج في الطيور البالغة فإنه يؤدي إلى انخفاض حاد في انتاج البيض مع احتمال وجود علامات تنفسية ونادرا 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 الأكثر إمراضيه مثل عثرة لاسوتا بالإضافة الى وجود أخماج ثانوية بكتيرية مثل عصيات القولون E.coli والباستوريلاPasteurelua او الخمج بالمايكوبلازما وعادة نسبة الهلاكات قليلة ، أو نادرة (Spradbrow ،1993)

14-2 الآفة المرضية Gross Lesion

يعتمد ظهور الآفات المرضية وشدتها على الحالة المناعية للطير، ونوع العترة ، و عمر الطير ، وطريقة دخول الحمة وجرعتها ، وليس هناك أي مميز مرضي خاص للآفات المرضية لأي شكل من اشكال المرض (Stone ، 1986). وتتمثل الآفات المرضية في حالة العلامات التنفسية باحتقان ونزف في القصبة الهوائية ، والممرات التنفسية ، والحنجرة وقد يلاحظ تثخن الأكياس الهوائية مع احتواءها في بعض الأحيان على نضح مصلي، أو متجبن، أما الآفات المرضية في القناة الهضمية فتتمثل باقات نزفية ناتج عن تنخر جدران الأمعاء كذلك الآفات النزفية في مخاطية المعدة

الغدية، القانصة، بقع نخريه على الكبد والطحال ولا تلاحظ أفات عيانيه في الجهاز العصبي المركزي للطيور المخمجة (OIE , 2005).

15-2التغيرات النسيجية Histopathology

التغيرات النسيجية التي يمكن مشاهدتها في الجهاز الهضمي هي نزف ، وتنخر ، ووذمه في جدار الأمعاء في التجمعات اللمفية لاسيما لطخات باير (Payers Patches)، واللوز الاعورية (Cecal Tonsils) وحدوث تنكس كامل لها واستبدالها تدريجيا بمادة الليفين كما يمكن مشاهدة نزف حبري وكدمات صغيرة، وبعض الأحيان تقرحات في مخاطية المعدة الحقيقية وتجمعات لمفية حول فتحات الغدد المخاطية، وحدوث نخر في النسيج الغدي تحت الظهاري وتجمع الخلايا اللمفية أسفل الظهارة، يلاحظ تنكسا للخلايا العصبية في الدماغ (Neural degeneration) ودباقا (gliosis)، ووجود تكفف لمفي حول الأوعية الدموية ، وحدوث فرط تنسج الخلايا المبطنة للأوعية Hyperplasia of vascular endothelium، وفي حالة الخمج بالعتر العصبية فيلاحظ وجود التهاب عصبي لا قيحي في النسيج العصبي وبؤر تنخرية في الخلايا الدبقية glial cells وزيادة في انتشار الأوعية الدموية، وفي الجهاز التنفسي لاسيما الجزء العلوي ، يلاحظ تغيرات نسيجية شديدة متمثلة باحتقان وأحيانا نزف في المنطقة المخاطية للقصبة الهوائية وتحت المخاطية ووجود الوذمة بينها، وتكوين الخلايا الالتهابية في الطبقة تحت المخاطية للقصبة الهوائية، الرئتين والأكياس الهوائية، بالإضافة إلى انتشار البؤر المتنخرة في أعضاء مختلفة مثل القلب، والرئتين، والكبد، والبنكرياس، والمرارة والخلايا الشبكية المبطنة والخلايا اللمفية للطحال، وجراب فابريشيا وغدة التوثة (Alexander، 2003). وفي الدجاج البياض يلاحظ وجود الوذمة ، ونزف وتنكس Degeneration المبايض ويحتمل وجود الجلطة (Thrombosis) في بعض الشعيرات الدموية لمعظم الأعضاء (OIE , 2005).

2 - 16 التشخيص

2- 16 - 1 التشخيص الحقلي Field Diagnosis

يشخص مرض نيوكاسل حقليا اعتمادا تاريخ الحالة المرضية، والعلامات السريرية التي تعتمد شدتها على شكل المرض، ومن ابرز العلامات السريرية في الأفراخ غير المحصنة أو التي حصانتها غير كافية للحماية هي نسبة الهلاكات العالية، وسرعة انتشار المرض، والخمول، والإسهال المائي المخضر، وصعوبة التنفس، والافرازات المخاطية من المنخرين، واحتقان الجفون، التواء الرقبة، وشلل الأطراف والأجنحة (Bell ، 2000). ومن التغيرات المرضية التي يمكن عدها شائعة عند خمج الافراخ احتقان القصبات الهوائية وحدوث نزف في المعدة الحقيقية والأمعاء وبالرغم من أن التشخيص الحقلي يعطي مؤشرات قوية على الخمج بمرض نيوكاسل الا انه لا يمكن الاعتماد عليه بصورة كلية لوجود امراض عديدة تعطي علامات مشابهة كالخمج بأنفلونزا الطيور والتهاب القصبات المعدي (Alexander .;2004 et al).

2-16-2 التشخيص المختبري

يمكن تأكيد التشخيص الحقلي بالتشخيص المختبري الذي يعتمد على عزل الحمة وتوصيفها

2 – 16 -2 - 1عزل الحمة Virus Isolation

تتم عملية العزل بأخذ مسحات (Swab) من الرغامي ، فتحة المجمع ، أو الفضلات للطيور الحية المخمجة لان الحمة تتكاثر بالدرجة الاساسية في القناة الهضمية والتنفسية. ويعتمد عدد العينات المستخدمة للعزل على حجم الحقل المخمج . اما بالنسبة للعينات المأخوذة من الطيور الهالكة فيشترط الحصول عليها من الطيور الهالكة حديثا واعتمادا على العلامات السريرية التي أظهرتها قبل هلاكها وتشتمل على الرغامي ، الرئتين في حالة وجود علامات تنفسية بالإضافة الى الكبد والطحال

واما عند ظهور علامات عصبية كالتواء الرقبة فيؤخذ الدماغ لغرض العزل، وتكون عملية جمع العينات في المراحل المبكرة للمرض (Alexander , 2003).

2 - 16 - 2 - 2 تنمية الحمة Virus Culture

تستخدم لهذا الغرض خلايا الزرع النسيجي بأنواعها وأجنة بيض الدجاج النامية ، وتعد الأورمات الليفية لأجنة الدجاج (Chicken embryo Fibroblast) هي اكثر خلايا ، وتتميز العتر الضارية والمتوسطة الضراوة بسهولة النمو على الأوساط الزرعية بدون أي اضافات عكس الضعيفة الضراوة، اما طريقة الحقن باجنة الدجاج النامية بعمر (9-11) يوما هي الأكثر حساسية واستخداما ويتأثر هلاك الأجنة بكمية الأضداد الأمومية الموجودة في كيس المح ، لذلك يفضل عند تشخيص الخمج استخدام البيض من القطعان الخالية من المسببات المرضية Specific pathogen free بسبب امكانية اختزال معايير الأضداد عند استخدام البيض الحاوي على الأضداد الأمية (Alexander ،1997).

2 - 16 - 2 - 3 الاختبارات المصلية :.

2-16-2-3-1 اختبار التلازن الدموي (HA) Haemagglutination Test

هناك عدد من المسببات المرضية لها القابلية على تلزين خلايا الدم الحمر الطيور وبعض اللبائن ومن ضمنهم حمة مرض نيوكاسل (Charlton BR. ;1996) وتعد هذه الخاصية أساس فحص اختبار اثباط التلازن التي يمكن تستخدم في تشخيص الحمه (Gagic M.et.al ; 1999). تمتلك كل سلالات مرض نيوكاسل هذه الخاصية لكن بدرجات متفاوتة، وتزداد سرعة تلازن خلايا الدم الحمر في حالة استعمال المادة المخففة التي تحتوي على الكهارل (Electrolytes) مثل كلوريد الصوديوم (NaCl) وللحرارة أيضا تأثير على سرعة التلازن للخلايا الدموية الحمر بفعل الحمة، ويسيب فعالية النيورامنيديز يحصل شطف الخلايا المتزنة، لذلك ففعالية التلازن (HA) عادة تقاس بحضن الطبق ب (+4) م لتثبيط فعالية الأنزيم، وتكون

قراءة النتيجة بحساب أعلى تخفيف للمستضد يعطي تلازنا كاملا في حفر طبق الاختبار(Charlton BR. ;1996)

2-3-2-16-2 اختبار اثباط التلازن الدموي Haemagglutination Inhibition (HIT)

اختبار سريع وبسيط وغير مكلف، وبعد الأكثر شيوعا في الاستعمال لغرض تشخيص الخمج بحمة مرض نيوكاسل وقياس الاستجابة المناعية بعد التلقيح (Cosgrove , A.S. ; 1999). ونادرا ما تشخص الأضداد بهذا الاختبار قبل اليوم السابع، كما ويستخدم التفريق الخمج بمرض نيوكاسل عن بقية المسببات التي تلزن خلايا الدم الحمر مثل حمة انفلونزا الطيور، حمة مرض التهاب القصبات المعدي (IB)، حمة (Adeno virus) المايكوبلازما كاليسبتكم والمايكوبلازما ساينوفياي (Grimes ، 2002). يعتمد الاختبار على الأضداد الموجودة في مصل الطيور والتي تمنع حمة مرض نيوكاسل من تلزين خلايا الدم الحمر (2003، Hussain,l.,et.al. ;). هناك عوامل تؤثر على معيار الأضداد المقاسة مثل عترة الحمة، ونوع الطيور، وبرنامج التلقيح، وجرعة اللقاح، وطريقة دخول الحمة، و يمكن اختزال تفاعلات التلازن غير المتخصصة بالحرارة ولكن هذه العملية تقلل من حساسية الاختبار، والطرائق المستخدمة في طريقة الفا التي تتمثل بتخفيف الحمة تخفيفا ثانيا ثم إضافة كمية معلومة وثابتة لمصل مرجعي ضد مرض نيوكاسل (OIE ،2005) ، أما طريقة بيتا وهي الطريقة الأكثر استعمالا من طريقة ألفا ، وتتضمن تخفيف المصلى تخفيفا ثنائيا ومن ثم إضافة كمية معلومة وثابتة من الحمة وإن نتيجة الاختيار تستخدم كدليل للحالة المناعية للطيور وبعد المستوي المناعي جيدا اذا كان معيار أثباط التلازن (2) ، أو أكثر عند استخدام (4) وحدات تلازنية (HA) أما أقل معيار سجل قد يوفر الحماية من السلالة الضارية فهو (2^3) (1992 Jeurissen et al.;) .

2-16-2-3-3- تقنية الأنزيم المناعي الممتز غير المباشر In Direct enzyme- Linkage Immunosorbant Assay (ELISA)

الاختبار ذو حساسية عالية مقارنة بالفحوصات الأخرى، ويتميز بيسر الإنجاز وسرعته ، كما أن من مواصفاته دقة تشخيص الخمج بالسرطانات ، ويميز الخمح بحمة نيوكاسل عن بقية الحمات مثل التهاب القصبات الخمجي IB، الكمبورو IBD وكذلك الحمات اللقاحية وبالإضافة الى حساسية الاختبار العالية في قياس انواع مختلفة من الأضداد وتكون كمية المصل المستخدمة قليلة جدا ، وتسجل القراءة بوساطة جهاز الحاسوب ، (OIE ، 2005) ويعد الاختبار اكثر ملائمة من اختبار اثباط التلازن لاسيما عند الكشف عن أضداد الأمراض الأخر بالإضافة الى ضرورة المعاملة المسبقة للأمصال المراد فحصها ، لكن من الناحية الاقتصادية فهو اكثر كلفة، وعدم إمكانية تطبيقه مالم يستعمل مضاد النوع المعني المرتبط بالأنزيم (Anti Species Conjugates) بدلا من مضاد أمصال الدجاج، ومن خلال المعيار المسجل بهذا الاختيار لا يمكن التفريق بين الاستجابة المناعية للتلقيح والخمج الحقلي بالحمة (Johnston et al.1997) وتتلخص الفكرة الأساسية للفحص كما وصفها الباحث (Kim et al. ،1989) بارتباط المستضد مع الأضداد الموجودة في المصل المراد الكشف عنه ، وبوجود أنزيم (Peroxidase) المرتبط بأضداد متخصصة ضد الأضداد الخاصة بالحمة، وبعد إتمام الارتباط تضاف المادة الحليلة للأنزيم ويدل على حدوث الارتباط بظهور لون مميز بعد إضافة المحلول الموقف (Stop Solution)، وتعتمد شدة اللون على كمية الأضداد في المصل المراد معايرته وتسجل النتيجة اعتمادا على شدة امتصاص الضوء بجهاز المطياف مقدرة بما يسمى بقيمة الكثافة الضوئية (Optical Density Value (O.D التي تدل في حالة عدم وجود تغير باللون إذا كانت القراءة (صفر) على عدم وجود اضداد يستطيع الاختبار قياسها، أو يحتسب المعيار بالاعتماد على القراءة المعدة بجهاز القراءة الخاص بفحص الاليزا (Robert, J. et.al. ; 2002).

2-16-2-3-4- اختبارات التعادل المصلي

يستخدم هذا الاختيار لتأكيد تشخيص الحمة ، وتفريقها عن بقية الحمات لكن من مساوئه تكاليفه الباهضة، والوقت الذي يستغرقه (Kolakofsky ، 1998) ، وتتلخص فكرة الاختبار بإضافة المصل الحاوي على الأضداد المعادلة للحمة الى العالق الحاوي على لحمة ، ويشترط أن يكون المصل معقمة (Sterile) وخال من الاضافات الكيميائية مثل الفينول والفورمالين، وقد عرض الى درجة حرارة (56) م لمدة (30) دقيقة للتخلص من مثبطات الحمة غير المتخصصة الحساسة للحرارة (Alexander ، 1997).

أما الحمة المستخدمة فيجب ان تكون ذات معيار حجمي عال ومطبعة على خلايا الزرع النسيجي بالإضافة الى خلوها من البكتريا ، الفطريات ، المايكوبلازما ، بعد ذلك يوضع المزيج على الوسط الزرعي النسيجي وتعمل الأضداد المعادلة للحمة على منعها من احداث التغيرات المرضية الخلوية (Cytopathic effect) ونقارن النتائج مع الأوساط الزرعية النسيجية الحاوية على العالق الحاوي على الحمة مع المصل الخالي من الأضداد المعادلة له (Kim et al. ،1989) ، ومن الممكن استخدام أجنة بيض الدجاج لاجراء الاختبار .

2-16-2-3-5. اختبار الاستشعاع المناعي Fluorescent Antibody Test

يعد هذا الاختبار اكثر خصوصية في تشخيص الحج بالحمة لإعطائه نتائج في وقت أسرع من طريقة عزل لحمة ، و يمكن الحصول على صورة أكثر وضوحا عن المناعة بالإضافة الى استخدمه لدراسة الأمراضيه ، ويمكن الكشف عن مكونات الحمة في السايتوبلازم وتميزها عن أي حمة في مقاطع الزرع النسيجي الرقيقة حيث تعلم الأضداد التي ترتبط مع المستضد باستخدام صبغات مثل الفلورسين وتفحص باستخدام مجهر التألق المناعي الذي يستخدم فيه الأشعة فوق البنفسجية (Grimes; 2002)، لكن بسبب الاستعمال الواسع للقاحات ادى الى صعوبة التميز بين السلالات اللقاحية، والخمج الحقلي (Lancaster & Jones ; 1988) وهناك العديد من

البحوث توصي باعتماده في المناطق الموبوءة مع عزل الحمة وتوصيفها ومن فوائده الأخرى سهولة القياس الكمي والنوعي للأجسام المضادة (IgG, IgM) لكن مع ذلك فإن هذا الاختيار غير شائع الاستخدام بسبب الكلفة العالية، الجهد و استخدام عدد قليل من العينات عند إجراء الاختبار (Grimes ، 2002).

2-16-2-4 اختبار التحدي (Challenge Test)

يعد من الاختبارات المهمة التي يعتمد عليها ، لغرض تقييم كفاية اللقاحات المستخدمة للحماية من الخمج بمرض نيوكاسل، وهناك عدة طرائق لاجراء الاختبار منها الحقن عن طريق العضلة اوعن طريق التقطير بالمنخرين والعين، أو خمج عدد من الطيور وتركها بين السليمة ، ومن ثم مراقبتها لمدة معينة، وتسجيل الهلاكات والعلامات السريرية، (Beard & Hanson 1981).

2-17 المناعة ضد مرض نيوكاسل (Immunity)

2- 17 - 1 المناعة الفعالة Passive Immunity

وهي المناعة التي ليس لجسم الطير أي دور في تكوينها بل يحصل عليها جاهزة من الأمهات (Maternal Immunity) أو عن طريق الحقن، وتخلف عن المناعة المنفعلة التي يولدها الجسم ضد أي مستضد قادر على تحفيز الجهاز المناعي (Lethonen & Wiljanen, 1980) وتمثل المناعة الأمومية الأضداد التي تنقل من الأمهات الى الأفراخ حديثة الفقس عن طريق صفار البيض، ويختلف مستوى الأضداد المكتسبة من قطيع لأخر، وبين الأفراخ لنفس القطيع اعتمدا على الحالة لمناعية للأمهات (Grimes , 2002) . وتكون كمية الأضداد في الأفراخ بعمر يوم واحد معادلة الكمية الأضداد في الأمهات، ومن ثم تبدأ تدريجيا بالانخفاض بعد (2-3) ايام ويكون الانخفاض بمقدار اللوغاريتم واحد ، كل اربعة ايام ونصف وحتى تتلاشى بعمر (3) اسابيع اذا كانت الامهات ملقحة باللقاح الحي ، وأكثر من ذلك حتى (42) يوم إذا كانت الامهات ملقحة بالتفاح المبطل، او مخمجه بمرض نيوكاسل (Deleeuw , O.et.al.; 2005) ، وتتداخل المناعة الأمومية مع الاستجابة المناعية

للتلقيح الأولي فتثبط الاستجابة المناعية في الطيور التي تمتلك مناعة أمومية متبقية وتعمل الأضداد الأمومية على تثبيط تكاثر لحمة عند استخدام اللقاحات الحية ومعادلة المستضدات عند استخدام اللقاحات المبطلة، تعمل الأضداد الأمومية على تقليل التفاعلات الجانبية الشديدة عند إجراء التلقيح بعمر مبكر (OIE,2002) .

2 - 17 - 2 المناعة الخلوية (Cell Mediated Immunity)

تؤدي المناعة الخلوية دورا مهما في مقاومة الخمج بحمة مرض نيوكاسل في المراحل المبكرة من حياة الطيور، وتتكون هذه المناعة بعد مرور (2-3) ايام من دخول الحمة الى الجسم، وتتناقص خلال الاسبوع الثالث والرابع ودورها معادلة الحمة في الاستجابة المناعية الأولية (Mayo, 2002)، ويمكن تحفيز الاستجابة المناعية الخلوية بإعادة التلقيح، كما وتتحفز أسرع من المناعة الخلطية عند التلقيح بالتقطير بالعين (McGinnes et al. ، 2002)، وتتمثل المناعة الخلوية بتحفيز الخلايا اللمفية (T cell)، ومن ثم يتكون اكثر من 90 نوعا مختلفة من عوامل يطلق عليها اسم المدورات الخلوية (Lymphokines) التي هي عبارة عن ببتيدات متعددة لها تأثير سام على خلايا الهدف وأحداث عملية الالتهاب (2005 ; . Oldoni, I. et.al)، وتعمل قسم من الخلايا اللمفية على تحفيز الاستجابة المناعية للخلايا اللمفية نوع B (Cell) وخلايا البلعم الكبير Macrophage أو بقية الخلايا المساعدة T helpers ، وهناك خلايا لمفية من نوع (T cell) نعمل على تثبيط فعالية بقية الخلايا (Spradbrow, P.B. ;2002) .

2 -17-3 المناعة الخلطية Humeral Immunity

تعد الاستجابة المناعية المتمثلة بإنتاج الأضداد هي افضل دليل لتحديد مستوى الاستجابة المناعية في الدجاج ضد حمة النيوكاسل، وتسمى الخلايا المسؤولة عن انتاج الأضداد بالخلايا اللمفية نوع B Lymphocytes، وتتكون في المراحل الجنينية في الكبد ، وكيس المح ، ونخاع العظم ومن ثم تنتقل الي جراب فابريشيا (Bursa of Fabricius) بعد 15 يوما من مدة الحضن، ومن ثم يكون انتقال هذه

الخلايا بصورة تدريجية في الدم، والطحال، واللوز الاعورية، وغدة هاردر، والتوثة (Grimes , 2002) . وتظهر الأضداد في مصل الطيور خلا (6-10) ايام من دخول الحمة ويصل معيار الأضداد الى القمة خلال (3-4) أسابيع، ومن ثم تبدأ بالانخفاض التدريجي حتى (3-4) شهر، ويحفز اللقاح الزيتي انتاج مستوى عال جدا من الأضداد الكافية لحماية الطير ضد الخمح بالمرض لعدة أشهر (1986 ، Nonnewitz & Cukhaven). ويعتمد انتاج الاضداد على نوع العترة ، وضراوتها، وحالة الطيور المناعة والعمر ، ونوع الطير، والتغذية (1999 ، Obradorfer et al.). وتتحفز الأضداد المثبطة للتلازن والمعادلة للحمة بوساطة المستضدات السطحية الموجودة على غلاف الحمة، وهما مستضد الالتحام ومستضد التلازن والشطف (Haemagglutinin - Neuraminidase & Fusion Glycoprotein (Alexander ، 1997). والمناعة الخلطية المتمثلة بالأضداد والخلايا المكونة لها تكون متخصصة وتلتصق الأضداد بالحمة الهدف وتتمثل هذه بالكلوبيولين المناعي IgM الذي يظهر بعد (4-5) ايام ويختفي بعد اسبوع و IgG الذي يظهر بعد (5) ايام وهو الأكثر أهمية، ويصل مستوى انتاجه الى القمة بعد (3-4) اسبوع ثم يقل ببطء، ويتأخر ظهور هذه الكلوبيولينات في المصل عند التلقيح باللقاح المبطل الزيني، وطريقة عمل الأضداد التي يعتمد عليها في التلقيح هي الالتصاق بالحمة وغلق المستقبل الخاص بها، أو منع انتقالها وتسهيل عملية التهامها بواسطة (Macrophage)، ولكن ليس لها القابلية على قتل الحمة (Palya, 1991).

2 - 17 - 4 المناعة الموضعية Local Immunity

لقد اثبت الباحثان (Palya & Rweyerniatill ، 1992) ان الحماية الأولية تلاحظ بوجود مستوى قليل من الأضداد المقاسة في المصل أو بغيابها ويعود ذلك الى وجود المناعة الموضعية في الجهاز التنفسي، وتعد غدة هاردر هي المصنع لمعظم الأضداد الموضعية المتخصصة لحماية العين التي تكون حساسة للخمج عن طريق الهواء، والرذاذ ويبدأ تجمع خلايا البلازما ويتطور خلال (4) اسابيع من العمر، وتكون نسبتها عالية في غدة هاردر ومن ثم الغدد الدمعية (Peeters et . ، 1999

al) ويحفز انتاج الكلوبيولين المناعي IgA بنسبة عالية و IgM و IgG بنسة اقل مع افرازات غدة هاردر ، ويكون انتقال هذه الكلوبيولينات من غدة هاردر الى الافرازات المخاطية و الدموع عن طريق الدورة الدموية (Powell ، 1982) ثم بزيادة عدد الخلايا المصنعة لل IgA في غدة هاردر بتقدم عمر الطير فيصبح IgA هو السائد، وهناك عدة عوامل تؤدي الي انخفاض معيار الكلوبيولين المناعي IgA مثل الإجهاد وسوء التغذية، الخمج بالأمراض النفسية (Rahman et. al. ، 2000). وتطرح الكلوبيولينات المخاطية أيضا من خلايا البلازما الموجود في الطبقة تحت المخاطية للجهاز الهضمي وان اعطاء اللقاح الحي عن طريق التقطير بالعين يؤدي الى تكاثر الحمة اللقاحية في الخلايا المبطنة لقناة غدة هاربر لزيادة عدد الخلايا المكونة للكلوبيولينات المداعبة القريبة من الأوعية الدموية ، وهجرة الخلايا اللمفية عبر قناة الغدة الى الأنسجة اللمفية الموجودة في الملتحمة، مما يؤدي الى تثبيط ومعادلة الحمة في موضع دخولها، ومن ثم حماية الطير من الخمج (1999 ، Ricks et.al.).

2 - 18 التمنيع Immunization

التلقيح هي عملية روتينية تستخدم للسيطرة على الخسائر التي يسببها المرض ولكنها لا تمنع تكاثر الحمة وطرحها لذلك لا تعد بديلة للإدارة الجيدة والأمن الحيوي (Alders, RG ; 2000) ولقد بدأت الدراسات عن انتاج اللقاحات واستخدامها للسيطرة على مرض نيوكاسل بعد اكتشافه وأستخدم اللقاحات لأول مرة الباحثان (layer & Dobson ، 1940) وقد استخدمت العتر الحقلية الضارية بعد تضعيفها بالتمرير على خلايا الزرع النسيجي لأجنة من جنس المضيف أو من جنس أخر منها اللبائن وانواع مختلفة من الطيور، ثم استخدمت اللقاحات المبطلة في بداية الخمسينيات (Seal et al.1998). واستخدم الشب في البداية كمادة مساعدة Adjuvant ثم استخدمت الزيوت في تحضير اللقاحات المبطلة الزيتية في اوربا عام 1960 واعتمد الباحثون فكرة وجود تشابه في التركيبة الاستضدادية لجميع عتر حمة مرض نيوكاسل وان أيه واحدة منها قد توفر حصانة ضد العتر الأخرى عند اعطائها

بشكل لقاح فاستخدمت العتر المتوسطة الضراوة ومن ثم العتر الضعيفة للوقاية من العتر الحقلية (Sharma & Burmester ، 1981). اشار الباحث الباوي (2007) إلى أن عتر حمة مرض نيوكاسل قد تكون غير موحدة مستضديا، ويمكن الاشارة الى ان هذه العتر تتباين في نسبة حصانتها ضد المرض (Siegel, H.S. ، 1985) ولقد حدثت عدة تطورات باتجاه تحقيق حماية جيدة في اقل تكلفة حيث طور اللقاح الثابت حرارية (Thermostable Vaccine)، واستخدمت فيه العتر التي لها خاصية الثبات الحراري أو المقاومة للدرجة حرارة ومن ثم زيدت هذه المقاومة بوساطة الانتقاء الاصطناعي المختبري Laboratory Artificial Selection (Grimes ، 2002)، هذه اللقاحات تتميز بقابليتها على المحافظة على فعاليتها في حالة بقائها لمدة (12) اسبوعا بدرجة (28) م بشكل مجفد (Freeze Dried) ومن ثم يمكن لمستخدمي وموزعي هذه اللقاحات اختزال مشكلة عدم توفر كمية كافية من الثلج، ولا يمكن تعريض هذه اللقاحات الى ضوء الشمس المباشر أو درجة الحرارة العالية واثبتت هذه اللقاحات قدرتها على الحماية من العتر المحلية المعزولة (Siegel, H.S. ، 1985)، وبعطى هذا النوع من اللقاحات بالتقطير بالعين، وعن طريق العلف وماء الشرب والحقن واقتصر استخدام هذا النوع من اللقاحات وبنجاح في تلقيح الطيور المرباة في القرى، وليس على نطاق تجاري، وتتحدد كفاءة اللقاح بثلاثة أمور رئيسية، وهي درجة التصنيع للقاح، ونوع اللقاح حي او مقتول والعترة اللقاحية المستخدمة بالنسبة للطيور نفسها وبقية أنواع الطيور التي يمكن أن تخمج نتيجة انتشار المستضد اللقاحي، وانتقاله (Alexander ، 2000) .

2 - 19 أنواع اللقاحات Vaccines Types

تقسم اللقاحات المستخدمة للوقاية من المرض إلى نوعين هما : - اللقاحات الحية واللقاحات المبطلة أو المقتولة.

2- 19 -1 اللقاحات الحية Live Vaccines وتشتمل على نوعين هما :

2-19-1-1 اللقاحات الحية الضعيفة الضراوة Live Lentogenic Vaccines

وتستخدم فيها العتر الضعيفة، والقادرة على توليد استجابة مناعية كافية ، والمثل النموذجي لهذه العتر هي (F , BI ، لاسوتا) (OIE , 2004) ويمكن اعطاؤها بطرق مختلفة مثل التقطير بالعين أو المنخر ، والرش ، وماء الشرب ولها تأثير في منع الخسائر، وتعتمد فعالية اللقاح الحي على قابلية الحمة على التكاثر وتحفيز الاستجابة المناعية (Alexander ، 2003) ، وتعد عترتي AG68 ، لاسوتا الاكثر كفاءة في التمنيع من باقي العتر، وتعطي هذه اللقاحات بالأعمار الصغيرة وقد يصل معيار الأضداد بعد التلقيح الى 2^2 ، واللقاح الحي الأكثر تمنيع هو الأكثر ضراوة و يسبب مضاعفات بعد التلقيح (Spradbrow ، 1988) ، ويعطي اللقاح الحي في حالة التلقيح الاضطراري بطريقة التقطير بالعين أو المنخرين او الرش بعترة BI أو لاسوتا بجرعة خمسة طيور لكل طير ، فيكون وضيفتها تتنافسي تثبيطي ومن ثم تعطي حماية موضعية ، ويحفز التلقيح باللقاح الحي كل اشكال الاستجابة المناعية (Grimes, 2002).

2-19-1-2 اللقاحات الحية متوسطة الضراوة Live Mesogenic Vaccines

تعد من اللقاحات ذات الكفاءة التمنيعية العالية حيث تسهم بصورة مميزة للسيطرة على المرض ، وتستخدم بصورة مفردة في المناطق الموبوءة بمرض نيوكاسل الضاري (Alexander, 2000) وتستخدم في التلقيحة الثانية معززا للتلقيحة الأولى بالعتر ضعيفة الضراوة (OIE ،2005) .

2-19-2- اللقاحات المبطلة (Inactivated Virus Vaccines)

تحضر اللقاحات المبطلة بمعالجة سائل الالنتويس الحاوي على الحمة بمواد كيمائية مثل مادة الفورمالين، أو بمادة البيتابروبيولاكتون Beta Propiolactone او بطرائق فيزيائية مثل التعرض للاشعة أو درجة الحرارة (Grimes ، 2002) وتستخدم العتر الضارية وغير الضارية في تحضير مثل هذا النوع من اللقاحات مثل (لاسوتا , F , BI) ، ومن هذه المواد هيدروكسيد الألمنيوم ، والشب ، والأملاح

الزيتية ، وفيتامين E ، والبارافين السائل Liquid Paraffin ، ومادة الأفردين (Wakenell and Sharma, 1986) وتعد اللقاحات المستحلبة الزيتية (Water in Oil Emulsion) هي الأكثر كفاءة في احداث استجابة مناعية للعترة اللقاحية بعد التلقيح المفرد، واللقاحات المبطلة المحضرة بصورة صحيحة تعطي حماية كافية ضد الخمج بالمرض (Who ، 1990) وتتطور المناعة بعد (2-3) أسابيع بعد الحقن في الطيور السليمة ، وتختفي بعد (6) اشهر حيث يستمر وجود المستضد الحمي وتحرره بشكل بطيء ولمدة طويلة مؤدية الى تحفيز انتاج الأضداد إذا أعطي بوجود المناعة الأمية الى أن يصل الطير للكفاءة المناعية عندما تقل الأضداد الأمومية (Wakenell and Sharma, 1986) . وان التحفيز المستمر لمدة طويلة يؤدي الى توليد الحماية وتحفز اللقاحات المبطلة المناعة الخلطية وبسبب عدم امكانية تكاثر المستضد في اللقاح الزيتي لذا يحقن بكمية كافية ويكون مستوى الأضداد في الأمهات الملقحة باللقاح الزيتي معادل لنقص المستوى في الذرية بعمر يوم ، وقد تصل الى الصفر بعمر (25) يوما (Rahman et al. ، 2004) وتعد اللقاحات المبطلة أكثر كفاءة في التمنيع من اللقاحات الحية، وتزداد هذه الكفاءة اذ سبقت باللقاح الحي (OIE ، 2005).

2 - 20 طرائق التلقيح

2- 20 -1 طريقة التلقيح بوساطة الرش

وهي واحدة من الطرائق الواسعة الانتشار لكونها سهلة التطبيق، غير مكلفة بالإضافة الى دورها في توليد استجابة مناعية سريعة ، ومتجانسة خلال ثلاثة أيام بعد التلقيح وبكفاءة اربعة اضعاف طريقة ماء الشرب (Anderson et.al.; 1999) ويحفز هذا النوع من التلقيح الجهاز المناعي المخاطي (Mucosal Immune System) بنمط فعال لكون الخمج يحدث بصورة طبيعية عن طريق المسالك النفسية التي تكون الظهارة فيها ملائمة لنمو الحمة، وتتمثل هذه الاستجابة بتكوين أجسام مضادة بكمية كبيرة من الكلوبيولين المناعي نوع (IgA) في مناطق دخول الحمة، وتكاثرها في

القناة النفسية، والقناة الهضمية ولذلك تستخدم هذه الطريقة في حالات التلقيح الاضطراري باستخدام العتر اللقاحية الضعيفة، ويعتمد نجاح هذه الطريقة على عدة عوامل منها حجم القطيرات المستخدمة، و تكون عادة بين (50-100) مايكرون في الأعمار الصغيرة بحيث لا تتمكن من النفاذ إلى الجزء السفلي من الجهاز التنفسي، وتستخدم قطيرات ناعمة في تلقيح الطيور الكبيرة بالعمر، ومن العوامل الأخرى عدم وجود أخماج مرضية في القناة النفسية كالخمج بالمايكوبلازما كاليسبتكم ، لعصيات القولونية ، و لنوعية العترة المستخدمة في اللقاح دور مهم في هذا النوع من التلقيح فالعترة اذا ما استخدمت طريقة التلقيح بالرش الخشن لا تؤدي لي علامات تنفسية ، او اجهاد للطيور كتلك التي تسببها عترة لاسوتا (Bary ، 1998).

2 - 20 -2 طريقة التلقيح بالتقطير بالعين والمنخرين

تعد من طرائق التحصين الفردية ، وتعطي استجابة مناعية جيدة ومتجانسة لفترة زمنية أطول من طريقة التلقيح بماء الشرب والتلقيح بالرش، وذات معياريه اعلى منها بأربعة أضعاف (Becht et.al. 2002). ويعطي هذا النوع من التلقيح مناعة موضعية بتحفيز غده هاردر Hadarian Gland لتكوين الكلوبيولين المناعي IgA بالإضافة إلى تكوين (IgG, IgM) في الدموع و مصل الدم (2001 ، Brandt) ومن العتر المستخدمة عترة (B1، لاسوتا، F)، وقد لوحظ أن استخدام العترة اللقاحية (B1) ضعيفة الضراوة أفضل في تحفيز الأضداد المناعية نوع ، IgA, IgG , IgM من بقية العتر عند اعطائها في اليوم الأول بعد الفقس وذلك بقدرتها على التكاثر في الخلايا الظهارية للقنوات الدمعية والمنخرين بصورة اكتر من العتر الأخرى (Bumstead et.al.; 2007). ولا توجد علاقة بين درجة الحماية بعد التلقيح بهذه الطريقة، ومستوى الأضداد في مصل الدم فقد أشار الباحثان Burkhardt & Muller في العام (2008) الى انه بالرغم من وجود مستويات منخفضة من الأضداد في أمصال الطيور التي لقحت الا انها اظهرت حماية ضد الخمح بحمة نيوكاسل الضاري عن طريق الجهاز التنفسي ، ويعود السبب إلى المناعة الموضعية المتولدة بعد التلقيح بهذه الطريقة ، والتي تستمر لمدة زمنية طويلة

وتوفر درجة عالية من الحماية، ومن ايجابيات هذه الطريقة حدوث تداخل قليل بين الأضداد المتولدة من التلقيح والأضداد الموجودة في مجرى النم، وتعد كل من طريقتي التقطير بالعين و التقطير بالمنخرين كفوءة الا ان التقطير بالعين اكفا (Cheville ، 2005) . ومن سلبيات طريقة التلقيح بالتقطير صعوبة تطبيقها في الحقول الكثيفة التربية لارتفاع تكلفة تنفيذها بالإضافة الى الجهد (Chin ، 1999) .

2-20-3 طريقة التلقيح بماء الشرب

تعد هذه الطريقة من اسهل الطرائق، واقلها كلفة ، وهي شائعة الاستعمال لكنها تعطي استجابة مناعية قليلة ومتباينة (Alexander et al 2004). ولا يفضل اعطاؤها بعمر يوم بعد الفقس بسبب تداخلها مع المناعة الأمية بالإضافة الى قلة استهلاك الماء، وتظهر الاستجابة المناعية بعد (5-6) يوم بعد التلقيح ، وغالبا ما تكون التفاعلات الجانبية بعد التلقيح بماء الشرب اقل من بقية الطرائق وتتأثر هذه الطريقة بعدة عوامل منها درجة الحرارة خاصة في فصل الصيف لان ارتفاع درجات الحرارة يؤدي الى تدافع الطيور ومن ثم يكون استهلاك الماء غير متساو، وبالتالي تكون الاستجابة المناعية غير متجانسه (Chui & Thorsen ، 1999). أن ضوء الشمس المباشر ووجود المواد الكيميائية في الماء مثل الكلور، واليود، والنحاس تعمل على تقليل تركيز الحمة أو قتلها (Confer et.al; 2008)، فيفضل اضافة حليب فرز بنسبة (2.5 gm/litter) ماء (Alexander ، 1997) لحماية الحمة اللقاحية لمدة زمنية أطول ومن ثم للحصول على مستوى مناعي افضل لدى الطيور .

2-20-4 التلقيح بالعلف

طريقه بسيطة لا تحتاج الي جهد كبير لتلقيح عدد كبير من الطيور الداجنة في وقت قصير، ويمكن استخدامها في الأماكن التي تكون مصادر المياه غير ملائمة لكن المناعة المتولدة متواضعة اذا ما قورنت بطريقة التلقيح بماء الشرب وباقي الطرائق (Young et al ، 2002) وتكون عملية التلقيح لما بإضافة اللقاح الي جريش العلف الجاف، ومن ثم التلقيح بالتغبير حيث تستخدم اللقاحات الحاوية على العتر الضعيفة

مثل عترة BI وعادة يضاف الحليب الفرز كعامل مثبت (Stablizing agent)، وقد أشارت الدراسات الأولية إلى ظهور علامات سريرية مختلفة بعد التلقيح بسبب التفاعلات الجانبية التي تزداد شدتها في الأفراح المعرضة للخمج بعصيات القولون E.coli أو المايكوبلازما (Dewitt ، 2001)، أو يعطى اللقاح مع العلف الرطب بشكل بلعات (pellets) بعد تجويع الأفراخ (Alexander ,et.al.; 2004).

2-20–5 طريقة التلقيح بالحقن

غالبا ما تستخدم هذه الطريقة بإعطاء اللقاحات المفتولة المحضرة من العتر الضعيفة ، والمتوسطة الضراوة و الضارية ، فيحقن اللقاح بالعضل في منطقة الصدر، والرجل ، والجناح ، او تحت الجلد في منطقة الرقبة (Bell ، 2000) والعتر المتوسطة التي يحصل لها تطبع Adaptation على أجنة البيض النامية، وثابت حقنها في الدماغ (ICPI) تعطى عن طريق الحقن بالعضلة ، او تحت الجلد (Westbury, H.A et.al ; 2001)، ويفضل اعطاء مثل هذه اللقاحات كتلقيح ثانوي بعد التلقيح الأولي بالعتر ضعيفة الضراوة (Engstron, et.al ; 1988). كما أن هناك لقاحات حية ممزوجة بمواد مساعدة Adjuvant مثل هيدروكسيد الألمنيوم كمادة محفزة للمناعة، ومن ايجابيات هذه الطريقة انها تعطي مناعة لمدة طويلة بالإضافة الى كون المناعة متجانسه، وتستخدم في تلقيح قطعان الأمهات، والدجاج البياض بالإضافة الى افراخ اللحم في المناطق الموبوءة، ومن سلبياتها هي انها تتطلب وقت وجهد، وعالية الكلفة بالإضافة الى ان الطيور الملقحة باللقاح الزيني تسبب افة بسيطة في موضع الحقن مع احتمالية تلوث المحاقن (Jordon ، 1990). لذلك يفضل الحقن في منطقة الرقبة تحت الجلد، لأن Adjuvant يبقى (70) يوما أو أكثر مما يؤثر على نوعية اللحم بالنسبة للمستهلك (Eterradossi ، 2001).

2-20-6 طريقة التلقيح الحقن بالبيض المجنن

اللقاحات هي طريقة حديثة وعملية من ناحية اقتصادية وتستخدم في اعطاء العديد من الامراض حمية مختلفة (Eterradossi, et.al.; 1992) ، ومن فوائدها اعطاء

جرعة موحدة من اللقاح لكل بيضة باستخدام الحقنة الأوتوماتيكية نفسها، وكما أن هذا النوع من التلقيح يعطي مناعة تصل الى (85 %) الا ان من مساوئ هذه الطريقة ان اعطاء اللقاح الحي، وحتى المقتول قد يؤدي الى هلاك الاجنة ومن ثم انخفاض نسبة الفقس (Jordon 1990). أنجز هذا النوع من التلقيح اول مرة الباحث (1987 ;Frnandez- Arias,et.al.) واستخدم هذه التقنية في العراق وبنجاح الباحثون جعفر(2002)، وزاهد والشمري (2009).

الفصل الثالث

الاستنتاجات:

- الإدارة الجيدة واتباع اجراءات الامن الحيوي في مزارع الدواجن واستخدام اللقاحات بالشكل الامثل تساعد كثيرا في الحد من انتشار المرض ، وبالتالي تقلل الخسائر الاقتصادية.
- استخدام اللقاح الزيتي مسبوقا باللقاح الحي المضعف يعطي نتائج ايجابيه وخاصة بالمناطق الموبوءة.
- استخدام يرامج لقاحيه بعد دراسة وبائية المنطقه.
- اختيار طريقة التلقيح المناسبة، فيفضل استخدام طريقة التلقيح بالرش على طريقة التلقيح بماء الشرب.

التوصيات:

- نوصي باستخدام اللقاحات المبطله مسبوقه باللقاحات الحيه.
- استخدام طريقة التلقيح بالش او التقطير بالعين.
- وضع برنامج لقاحي بعد دراسة وبائية المنطقة.
- تجنب عشوائية التربيه واتباع افضل اجراءات الامن الحيوي والادارة الجيده.

الفصل الرابع

المصادر

المصادر العربية

- الباوي ، فراس حسين كاظم (2007) . دراسة مقارنة للقاح ضد مرض نيوكاسل تجاري ومحلي زيني بطريقة الأجنة في دجاج اللحم رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري - جامعة بغداد .
- جعفر ، نوال صالح (2002) . دراسة طريقة التلقيح في أجنة الدجاج ضد مرضي نيوكاسل وكمبورا . رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري - جامعة بغداد .
- . زاهد ، عبد الامير ، الشمري ، صبيحة عبد علي (2009) . تلقيح أجنة الدجاج ضد مرض نيوكاسل باستخدام اللقاح المبطل الزيتي المحضر محليا في العراق وقائع المؤتمر التاسع | كلية الطب البيطري | جامعة بغداد / العدد الأول .
- فارس ، بشرى حمزة (2005) . تقيم برامج لقاحية مختلفة للقاح فايروس مرض 6 نيوكاسل المبطل المرسب بالشب في دجاج اللحم ، رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري - جامعة بغداد .

References

- Aiello, S.E .: Mays, A.; Amstutz, H.E. and Anderson, D.P. (2003). Newcastle disease. Mark Veterinary Manual.9th "Ed.

- Alders, RG (2000). Strategies for vaccination of family poultry against Newcastle disease in Africa. Second IAEA / FAO Research coordination Education.

- Alenxander, D.J. (1997). Newcastle disease and other paramyxo viridae infection. In: Disease of poultry, 10th Ed., Eds. By Calnek, HJ.; Barnes. , BW.; Beard. CW.; Reid, WM and Yoder, HW Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa, PP. 541-570.

- Alexander, D.J. (2000). Newcastle disease and other avian paramyxo virus Rev. Sci. Tech .offint.Epiz. 19 (2), 443 - 463

- Alexander, D.J. (2001). Newcastle disease. British poult. Sci. 20 101-105.

- Alexander , D.J. (2003) . Newcastle disease and other paramyoxvirus Pneumovirus . In : Disease of poultry , 11th Ed,Eds Cainek by B.W .. Saif , Y.M .: Mcdougald , L.R. and Swayne ,D.E. lowa statpress . PP . 64-81

- Alexander , D.J .; Bell , J. G. and Alders , R.G. (2004) . Atechnology review : Newcastle disease . FAO . Animal Production and health . Viale delle Terme di caracalla , 00100. Rome - Italy 161 .

- Ali , A.S .: Abdalla , M.O. and Mohammed , M.E.H. (2004) . Interaction between Newcastle disease and infectious bursal disease vaccines commonly used in Sudan . Int . J. Poult . Sci . , 3 : 300-304

- Andreason , C.B. , K.S. Lamer , B.G. Harmon . R. Gilson , J. M.Golde and J. Brown . (1999) . Heterophils function in healthy chickens and chickens with experimentally indue staphylococcal tenosynovitis . Vet Pathol . 28 : 419-427 . (Cited Barry , 2005) .

- Barry , G. H. (1998) . Avian heterophils in inflammation and disease resistance . Poultry. Sci.77.972-977.

- Beard , C.W. and Hanson , R.P. (1981) . Newcastle disease in Disease of poultry , 8 edition , Hofstad M.S.J. Barnes, HJ .; Calnek , B.W .; Reid W.M. and Yocker H.W. Towa state university Press , Ames Iowa , U.S.A. , 452-470 .

- Becht , H .; Muller , H. and . Muller , H. K (2002) . Comparative studies on structural and antigenic properties of two serotypes of infectious bursal disease virus . J Gen Virol 69 : 631-640 .

- Bell , J.C. (2000) . A comparison of the different vaccine available for the control of Newcastle disease in village chickens . paper presented at the SAD . Work shop on ND control in village chickens Maquoto , Mozambique , 6 - 9 March (2000).

- Brandt , Yao , Liu , Heckert , Vakharia . (2001) . Molecular Determinants of Virulence , Cell Tropism and Pathogenic Phenotype of Infectious Bursal Disease Virus . Journal of Virology 75 (24) : 11974-82 .

- Brown , CC . (2002) . Pathogenesis of six pigeon origin isolates Newcastle disease virus for domestic chickens Vet . Pathol. 353-362.

- Bumstead , N. , Reece , R.L. & Cook , J. K. A. (2007) . Genetic differences in bursal disease susceptibility of chicken lines to infectious virus . Poultry science , 72.403-410 .

- Burkhardt , E. and Muller , H. (2008) . Susceptibility of chicken blood lymphocytes and monocytes to infectious bursal disease virus (IBD) . Arch . Virol . 94 : 297-303

- Chansiripornchai , N and Sasipreeyjan , JA 2006) . Efficacy of live Bl or Ulster 2C Newcastle disease vaccines for protection of Newcastle disease virus in broiler chickens . Acta . Veterinaria.

- Cheville, N. F. (2005). Studies on the pathogenesis of Gumboro disease in the bursa of Fabricius, spleen, and thymus of the chicken. Am. J. Pathol. 51, 527-551.

- Chin, P.H. , (1999). List of approved animal vaccines and biologic importation, sales and use in West Malaysia. First Edition. Veterinary Association Malaysia.

- Chui, C. H. and J. J. Thorsen. , (1999). Experimental infection of turkeys with infectious bursal disease virus and the effect on the immunocompetence of infected turkeys. Avian Dis 28: 197—207.

- Confer , A. W. W. T. Springer , S. M. : Shane , and J. F. Conovan . (2008) . Sequential mitogen stimulation of peripheral blood lymphocytes from chickens inoculated with infectious bronchitis disease virus . Am . J. Vet . Res . 42.2109-2113 .

- Cosgrove , A.S. , (1999) .An apparently new disease of chickens , avian : G. (1991) nephrosis . Avian Dis . 6 : 385-389 .

- Cullen G.A. & Wyeth P.J. (1998) . Response of growing chickens to an inactivated IBD antigen in oil emulsion . Vet Rec . , 99,418 .

- De Witt JJ . Gumboro Especial 2. World Poultry Especial , October (2001) . Elsevier International , Business information .

- Deleeuw , O.S .: Kock , G .; Hartoge , L .; Ravens horst , 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 heamagglutinin - neuraminid - ase protein. J. Viro . 86 : 1759-1769 .

- Engstron, B.: Fossum, O. and Luthman, M. (1988). Blue wing disease ct chickens: experimental infection with a Swedish isolate chicken anaemia agent and avian reovirus. Avian Pathol. 17,32. 50.

- Eterradossi N. (2001). Major advances in infectious bursal disease virus (IBDV), Elsevier International, Business Information.

- Eterradossi, N.; Picault, J.P.; Drouin, P.; Guittet, M.; L'Hospitalier, R. and Bennejean, G. (1992). Pathogenicity and preliminary antigenic characterization of six IBD virus strains isolated in - France from acute outbreaks. J. Vet. Med. [B], 39, 683-691.

- Fernandez-Arias, A. Martinez, S. and Rodriguez, J. F. (1987). The major antigenic protein of infectious bursal disease virus, VP2, is an apoptotic inducer. Journal of Virology 71, 2014--8018).

- Gagic, M.; Hill, C.A. and Sharma, J.M. (1999). Containing specific - pathogen free chickens with vaccine containing multiple agent Avian dis 43: 293 - 301

- Glaucia, D. K .: King, D.J .: Seal, B.S. and Brown, C.C. (2001). Virulence of pigeon - origin Newcastle disease virus isolates for domestic chickens. Avian Dis. 45: 47-51.

- Grimes, S. (2002). Newcastle disease vaccines In: A basic laboratory manual for the small - scale production & testing of 1 - 2 ND vaccine.

- 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.

- Hassan, S.M.; AL - Hafez, HA K and Shukri, M.M. (2000). Potency of Six commercial live vaccines against Iraqi serologic subtypes of infectious bursal disease virus. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, Vol. 13, No. 2.

- Higgas, DA (1998). Comparative immunology of avian species. In: "Poultry Immunology. Eds. By Davison, T. F. Morris, T.R. and Payne, L.N. Jr. I. ed. Oxford, UK. pp. 150--168.

- Higgns, D. A. (1998). Comparative immunology of avian species. In Poultry Immunology. Eds. By Davison, T. F. Morris, T.R. and Payne, L.N. Jr. 1th. ed. Oxford, UK. pp. 150--168.

- Huang, Z.: Panda, A.; Elank umaran, S.; Gouindarajan, D.; Roc kemann, D.D. and Samel, S.K. (2004). The Hemagglutinin-Neuraminidase Protein of Newcastle disease virus determine tropism and virulence. J. Virol. 78 (8): 4176-4184.

- Hussain, L. MA. Za hoor, MH. Rasool, M. Shahid Mahmood, M.K. Mansoor and MN Riaz. (2003). Detection of Serum Antibody Levels against Infectious Bursal Disease (IBD) Virus Using Indirect Haemagglutination (IHA) Test in Commercial Broilers and International Journal of Poultry Science 2 (6): 442-445.

- Jayawarden, G.W. and Spradbrow, P.B. (1995). Cell mediated Immunity in chickens vaccinated with the V, strain of Newcastle disease virus. Vet. Microbial. 46: 37-41.

- Jeurissen, S.H.M. : Verveld, L. and Jans. E.M. (1994). Structure and function of Lymphoid Tissues of the chicken Poultry Science, Res, 5: 183.

- Johnston, P.A.; Liu, H.: Oconnell, T. phelps, P.; Bland, M.; Tyczkowski, J .: Kemper, A.: Harding, T.; Vakain. A.; Hadded. E.: Whitfill, C.; Gildersleeve, R.: and Rick. C.A. (1997). Application in ova technology. Poult. Sci. , 76: 165-178.

- Jordan. F.T.W. (1990). Newcastle disease. In "Poultry Disease 3ed Ed, Bailliere Tindall, London, PP. 123-132.

- Kim, J.H. : Rhee, Y.O. , Song.C.S. and Namgoong, S. (1989). Early vaccination of one day old broiler chicks against Newcastle disease using inactivated oil or gel adjuvant vaccine and or live B1 vaccines The Research reports of the rural development administration (Kerea). 31: 12-18.

- Kolakofsky Pelet T. Garcin, D., Hausmann S. Curranand J. and Roux L. (1998) Paramyxovirus RNA synthesis and the requirement for hexamer genome length the rule of six revisited, J. Virol. 72: 891-899.

- Lancaster, J.E. and Jones, A. (1988). Cooling of broiler hatching eggs during incubation Poultry science 29.3.

- Lethonen, O.P. and Viljanen. (1980). Antigen attachment in ELISA Journal of Immunological methods 34.61 - 70.

- Mast, J .: Gilson, D.; Morales, D.; Men lemans, G. and van den Berg, T.P. (2000). Transfer of Meternal antibodies from the yolk sac to the chicken Avian virology and Immunology unit. Veterinary and Agrochemical Research center (VAR). Brussels, Belgium - Mayo.M.A. (2002). Virus taxonomy - Houston 2002. Arch. Virol. 147 (5): 1071-1076.

- McGinnes, L.W.; Gravel, K. and Marrison, T.G. (2002). Newcastle disease virus HN protein alters the conformation of the F.protein at cell surfaces. Journal of Virology. 76,24: 12622-12633.

- 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 respiratory tract and on Escherichia coli infection J. Comp. Pathol. 111: 33. 42.

- Nonnewitz, and Cuxhaven. (1986). Newcastle disease In: 3M TAD veterinary symposium poultry disease.

- Obrdorfer - Romer, A.; Mundt, E.; Mebastion, T.; B. chholz, U. and Mettenleiter. (1999). Generation of recombinant lentogenic NDV from cDNA. J. Gen. virol. 8: 2987-2995.

- OIE (2002). Newcastle disease, Manual of standards for diagnostic test and vaccines. Ed. , Paris. PP. 1-18.

- OIE (office International deseas Epeizootice). (2005). Newcastle disease World or ganization for Animal Healt.

OIE, (Offic International des Epizooties) (2004). Newcastle disease. The center for food security and public Health Collage of veterinary medicine, lowa state university.

- Oldoni, I.; Brown.C.C .: King, D.J.; Samal, S. and B.S. (2005). The use of in situ hybridazation and Immunohistochemistry 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) Amanual on improved rural poultry production, 1 "ed, Department of livestock and fisheries Ministry of Agricvlture and Forestry. Vientiane.

- Palya, V. (1991). disease gumboro disease and inactivated Newcastle disease vaccines. animal production and health paper 89. Food and Agriculture Organization Rome. Pp: 29 - 60.

- Palya, V. and Rweyemamu, MM (1992). Live versus inactivated Newcastle disease vaccines, proceeding of the FAO symposium Newcastle disease vaccines for Rural Africa, Debrezeit, Ethiopia, April 1999, 107-119.

- Peeter's, B.P.H.; Deleeuw, O.S.; Koch, G. and Gieilkens A. L.J. (1999). Rescue of NDV from cloned cDNA evidence that cleavability of the fusion protein IS a major determination for virulence. Journal of Virology 37, 6: 5001--5009

- Powell, P.C. (1982). The Immune System B - cells and T - cells In: Avian Immunology, British veterinary poultry association Pp: 7-15

-Rahman, M.B .: Rahman, S.M.; Kabir, K.H.; Nazir, N.H.; Mmin, M. (2004). Efficacy of V. - HR Newcastle disease vaccine in broiler bird in Bangladesh. Inter. J. Poult. Sci. 3 (5): 365-369.

- Rhaman, M.M. Bari, A.S.; Giasuddin, M.; Islam M.R. , Alam J. Sil, G.G. and Rhaman, M.M. (2000). Evaluation of maternal and humoral Immunity against of Poultry Science. (5): 161-163.

- Ricks, CA .: Avakian, A.: Bryan. T.: Gildersleeve, R.: Hadded. E.: Tich, R.: King. S.: Murray. L .: phelps. Poston, R.; Whitfill, and

Williams. C. (1999). In ova vaccination technology advances in veterinary medicine 41.496-513.

- Ritchie, H. and Harrison, S. (2004). Paramyxovirdae Avian medicine section. Five, Disease Etiologies. PP.920-928.

- Robert, J. Eckroade: Kennett square: John, A.: Smith and Baldwin, GA (2002). Report of committee on Transmissible disease of poultry and other avian species. United States Animal Health Association. USAHA web.

- Seal, B.S. King, D.J. Lock, D.D. : Senne, D.A. and Jackwood, M.W. (1998). Phylogentic Relationship among highly virulent Newcastle disease virus isolators from exotic birds and poultry from 1989 to 1996 Journal of clinical microbiology.36.4: 1141-1145.

- Sharma, J. M. and Burmester, B.R. (1981). Resistance to Marek's disease at hatching in chicken vaccinated as embryos with the turkey herpesvirus Avian Dis. 26 1: 134-149.

-Siegel, H.S. (1985). Immunological Response as indicators of stress World poultry science journal 1.4: 36 – 42.

- Sprad brow, P.B. (2002). Testing Newcastle disease virus vaccines for efficacy. Department of veterinary pathology and public Health University of Queensland ,St - Lucia Brishane Australia.

- Spradbrow D.B. (1988). Geographic distribution In: Alexander, D.J. ed. CND Boston, MA, Aluwer Academic Publishers, 247.

- Spradbrow, P.B. (1993). Newcastle disease in village chickens. Poult. sci. 5: 57-96.

- Spradbrow, P.B. (1996). Protection against important disease including Newcastle disease. Proceeding of the 20 ". World poultry congress, New Delhi, India. 1: 31-34.

- Stone .HD. (1986). Effect of thimerosal concentration on the efficacy on in activated Newcastle disease oil-emulsion vaccines. Av. Dis. 29: 1030-1033.

- Stone, HD (1988). Optimization of hydrophile - lipophile balance for improved efficacy of Newcastle disease and avian influenza oil - emulsion vaccines. Avian Dis. 32 : 68 73.

- Thayer, S.C. and Beard, C.W. (1998). Serological procedures. In: Isolation and identification of avian pathogen Swayne. DE; Glisson, J.R.; Jackwood M.W. Pearson, J.E. and Reed, W.M. Eds. 4 ed. American Association of Avian Pathologists, U.S.A. pp: 255--267.

- Timmns, L. and Alexander, D.J. (2003). Cell Mediated Immune Response of chickens to Newcastle disease vaccines. Avian Pathol. 6 (1): 51-59.

- Wakenell P.S. and Sharma J.M. (1986). Chicken embryonal vaccination with avian infectious bronchitis virus AM. J. Vet. Res. 47: 933-938 and HN.

- Westbury, H.A .: Parsons, G. and Allan, W.H. (2001). Comparison of the immunogenicity of Newcastle disease strains V_4. Hitchner B_1, and Lasota in chickens: Test in chickens with meternal.

- Whittle, R. (2004). Newcastle disease. Animal and plant Health Service. www.dpi91d.gov.au servic.

- Who. (1990). Biological substances international standards and reagents. 1990. world healthy organization Geneva Switzerland.

-Young, M.; Grimes, R.; Spradbrow, P., Dias, P.; Siwa, A. and Labo, Q. (2002). Controling Newcastle disease, Alabrotary Manual in vallage chickens, Australian center for International Agriculture Research http: //www.aciar-gov-an

- Zahid, A. H. (1997). Field evaluation of Newcastle disease vaccines in broiler. Iraqi J. Microbiol. 9: 21-26.