

## قياس الاستجابة المناعية الخلطية لبرامج لقاحية مختلفة ضد مرض نيوكاسل في فروج اللحم باستخدام اختبار اثباط التلازن الدموي واختبار الاليزا

نافع صبيح جاسم علاء عبد العزيز عبد اسراء نجم عبدالله ظافر ياسر عزيز  
كلية الطب البيطري/ جامعة القادسية

### الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية لغرض تقييم كفاءة برامج لقاحية مختلفة ضد مرض النيوكاسل لمعرفة البرنامج الأفضل الذي يوفر حماية قوية ضد مرض النيوكاسل. صممت الدراسة الحالية لتحتوي أربع مجموعات من فروج اللحم نوع هيرد، والبرامج اللقاحية نفذت كالتالي: المجموعة الأولى لقحت بطريقة الرش بلقاح حي نوع (B1) بعمر يوم واحد، ثم لقحت بلقاح حي نوع لاسوتا في الأعمار 10، 20، 30 عن طريق ماء الشرب. المجموعة الثانية لقحت بطريقة الرش بلقاح حي نوع (B1) بعمر يوم واحد، ثم لقحت باللقاح الزيتي المقتول بعمر خمسة أيام عن طريق الحقن تحت الجلد في منطقة الرقبة، ثم لقحت بلقاح حي نوع لاسوتا بعمر 10 أيام عن طريق ماء الشرب. المجموعة الثالثة لقحت بطريقة الرش بلقاح حي نوع (B1) بعمر يوم واحد، ثم لقحت في الأعمار 7 و 18 بلقاح حي نوع لاسوتا عن طريق ماء الشرب. المجموعة الرابعة تم تلقيحها في الأعمار 7، 18، 35 بلقاح حي نوع لاسوتا عن طريق ماء الشرب. تم تقييم المناعة الامية بعمر 2 يوم وبعدها تم تقييم الاستجابة المناعية في الأعمار 14، 24، 34، 44 باستخدام اختبار اثباط التلازن الدموي واختبار الأنزيم المناعي المتمز غير المباشر. أظهرت النتائج عدم وجود فرق معنوي عند مستوى ( $P \leq 0.05$ ) بين مجاميع التجربة في مستوى الأضداد لمرض نيوكاسل المكتسبة من الأمهات، وكذلك لم يكن هنالك فرق معنوي في مستوى الأجسام المضادة بعمر 14 يوم عند مستوى ( $P \leq 0.05$ )، أما في عمر 24 يوم فقد أظهرت المجموعة الثانية مستوى أضداد أعلى من مجموعات التجربة الأخرى على مستوى ( $P \leq 0.05$ )، بينما بعمر 34 يوم كان هنالك فرق معنوي عند مستوى ( $P \leq 0.05$ ) بين المجموعة الثانية والثالثة فقط ولم يكن هنالك فرق معنوي بين بقية المجاميع. بينما في عمر 44 يوم كان هنالك فرق معنوي عند مستوى ( $P \leq 0.05$ ) لصالح المجموعة الثانية على حساب المجموعات الأخرى. أثبتت الدراسة الحالية كفاءة البرنامج المستخدم في المعاملة الثانية والذي أستعمل فيه اللقاح الزيتي مسبقاً بلقاح حي بطريقة الرش ويعزز بلقاح حي آخر.

الكلمات المفتاحية: المناعة الخلطية، البرامج القاحية، مرض النيوكاسل، اختبار اثباط التلازن الدموي، اختبار الاليزا، فروج اللحم

## Measuring the humoral immune response to various vaccine programs against Newcastle disease in broiler using hemagglutination test and ELISA test

N. S. Jassim A. A. Abed I. N. Abdullah Dh. Y. Aziz

### Abstract

The present study carried out to assess different vaccination programs against Newcastle disease to know the best program which provides bold protection against Newcastle disease. The present study designed to contain four groups of broiler chicks (type Hubbard), and vaccination programs done as following: T1 vaccinated at day old by spraying method with live vaccine type (B1), then vaccinated at 10, 20, and 30 days old with live vaccine type (Lasota) by drinking water method. T2 vaccinated at day old by spraying method with live vaccine type (B1), then vaccinated with killed vaccine at five days old by injecting subcutaneously at neck region. T3 vaccinated at day old by spraying with live vaccine type (B1), then vaccinated at 7, and 18 days old with live vaccine type (Lasota) by drinking water method. T4 vaccinated at 7, 18, and 35 days old with live vaccine type (Lasota) by drinking water method. Maternal immunity assessed at 2 days old then Immune response assessed in 14, 24, 34, and 44 days old by hemagglutination inhibition test (HI) test and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), and daily body weight recorded. The results of immune response tests revealed there is non-significance between experimental groups at 1, 14 days old ( $P \leq 0.05$ ), while there is highly significance in antibody level between T2 and other groups at 24 days old ( $P \leq 0.05$ ). In the 34<sup>th</sup> days old there is significance between T2 and T3 only while there is insignificance between other groups ( $P \leq 0.05$ ). In 44<sup>th</sup> days old there is high level of antibody in T2 which is significant in compare with other experimental groups ( $P \leq 0.05$ ). The present study provided the evidence of efficacy of the program that used killed vaccine which preceded with live vaccine by spraying method and followed by live vaccine by drinking water method in compare with other famous usable programs, and this efficacy represented in the levels of immune response and body weight, the present study also showed that increasing of vaccination numbers considered stress factor as well as it provide solid immunity against Newcastle disease.

**Key words:** humoral immunity, vaccination programs, Newcastle disease, hemagglutination test, ELISA, broiler.

## المقدمة

Antigenic Variation (10)، إلا انه لا يمكن تصنيف العتر على اساس هذه الاختلافات (11) وتقسم عتر الحمة حسب شدة المرض الى:-عتر ضارية ( Velogenic Strains) وعتر متوسطة الضراوة ( Mesogenic Strains) وعتر طفيفة الضراوة ( Lentogenic Strains). (12). لقد كان هدف هذه الدراسة ايجاد افضل برنامج لقاحي ضد مرض نيوكاسل في افراخ اللحم للحد من الخسائر في حقول التربية.

## المواد وطرائق العمل

جدول رقم (1) يوضح تصميم التجربة.

## أفراخ التجربة

تكونت الدراسة من تجربة واحدة أستمرت (45) يوماً , أجريت التجربة باستخدام أفراخ لحم تجارية عددها(100) فرخا بعمر يوم واحد غير مجنسة سلالة هبرد , من مفسس الموفق الاهلي , قسمت الافراخ الى أربعة مجاميع معاملة كل منها (25) فرخا للمجموعة الواحدة , وأعطيت الافراخ عليفة تجارية مصنعة من شركة حديثة لإنتاج الأعلاف , وتم تغليف الافراخ بصورة حرة واخضعت المجاميع لظروف تربية واحدة , وتمت تربية الافراخ على فرشة نشارة الخشب البيضاء وفي حجرات معزولة . لقحت الأفراخ بالفاح ND بأوقات مختلفة وجمعت نماذج الدم من المجاميع الأربعة بأوقات مختلفة من عمر الطيور وفصل منة المصل وأستخدم في قياس HI , ELISA وبمعدل 5 أفراخ لكل مرة من المجاميع المعاملة .

مرض نيوكاسل Newcastle Disease من أشد الامراض الوبائية القاتلة التي تصيب جميع أنواع الطيور الداجنة ، وانواع عديدة من الطيور البرية(1) بينما لا يصاب البط ويعتبر عاملاً ناقلاً ويعد الدجاج الأكثر استعداداً للإصابة بالمرض واطهار العلامات السريرية (2) . يتميز المرض بالاعراض السريرية والمرضية التي تتباين حسب ضراوة الفايروس المسبب والعتر والجعة وطريقة دخول الفايروس والعمر والحالة المناعية للطيور عند الخمج (3) يعد هذا المرض من الأمراض المستوطنة في العراق حيث عزلت الحمة في عام 1968 في منطقة أبو غريب ، وكذلك تمكن زاهد من عزل حمة مرض نيوكاسل في العراق وسميت (Zahid 2003) (4) . كما أنتشر مرض نيوكاسل في السنوات الاخيرة وبشكل كبير في الاعوام 2009-2007 وتسبب بخسائر اقتصادية كبيرة 5 وهو يعاود الظهور في كل مناطق العالم مسببا اندلاعات متكررة (6) . صنفت الحمة المسببة لمرض نيوكاسل على انها أحد أفراد عائلة البارامكسوفاريدي Paramyxoviridae تمتلك حمة مرض نيوكاسل خواص بايولوجية وفيزيائية تميزها عن بقية حمات البارامكزو Paramyxovirus مثل القابلية على تلزيم خلايا الدم الحمر(7) تكون مدة الحضانة بعد التعرض لحمة مرض نيوكاسل بين (2-15) يوماً، أو أكثر وبمعدل (5-6) ايام (8) . تظهر عتر الحمة اختلافات واسعة في الضراوة على الرغم من وجود نمط مصلي واحد(9) كذلك تتميز بوجود اختلافات مستضدية

## جدول (1) يوضح تصميم التجربة

| المجاميع | العمر بالايام | نوع اللقاح  | مواعيد جمع الدم         | طريقة التلقيح |
|----------|---------------|-------------|-------------------------|---------------|
| م1       | 1             | Hitchner B1 | عمر 2 يوم               | الرش الخشن    |
|          | 10            | LaSota      | عمر 19 يوم              | ماء الشرب     |
|          | 20            | LaSota      | عمر 29 يوم              | ماء الشرب     |
|          | 30            | LaSota      | عمر 44 يوم              | ماء الشرب     |
| م2       | 1             | Hitchner B1 | عمر 2 يوم               | الرش الخشن    |
|          | 5             | زيتي        | -                       | حقن تحت الجلد |
|          | 10            | LaSota      | عمر 24-34-44 يوم        | ماء الشرب     |
| م3       | 1             | Hitchner    | عمر 1 يوم               | الرش الخشن    |
|          | 7             | LaSota      | عمر 14 يوم              | ماء الشرب     |
|          | 18            | LaSota      | عمر 24-34-44 يوم        | ماء الشرب     |
| م4       | 1             | Hitchner    | عمر 1 يوم               | الرش الخشن    |
|          | 18            | LaSota      | عمر 14 يوم - عمر 24 يوم | ماء الشرب     |
|          | 35            | LaSota      | عمر 34 يوم - عمر 44 يوم | ماء الشرب     |

1- 2 نتائج فحص الأنتباط المناعي بعمر 14 يوم : أظهرت نتائج فحص الأنتباط المناعي كما هو موضح في الجدول (1) عدم وجود فرق معنوي بين معدلات مستوى الاجسام المضادة الموجودة في الافراخ بعمر 14 يوم على مستوى (P>0.05)

1- 3 نتائج فحص الأنتباط المناعي بعمر 24 يوم : أظهرت نتائج فحص الأنتباط المناعي الموضحة في جدول (1) وجود فرق معنوي بين معدلات مستوى الاجسام المضادة الموجودة في الافراخ بعمر 24 يوم عند مستوى (P<0.05) حيث كان مستوى الأجسام المضادة في المجموعة الثانية أعلى من مستوى الأجسام المضادة في المجموعات الأخرى

## التحليل الإحصائي

حللت النتائج إحصائياً باستعمال البرنامج المسمى SPSS الاصدار 15 لسنة 2008 حيث حللت النتائج باستخدام التحليل الوصفي للبيانات والذي شمل (اعلى قيمة - اقل قيمة - المعدل- الخطأ القياسي) تحليل التباين (Anova) واختبار (LSD) للكشف عن الاختلافات المعنوية بين معدلات المجاميع.

## النتائج

## 1- نتائج فحص الأنتباط المناعي (HI).

1-1 نتائج فحص الأنتباط المناعي بعمر 2 يوم: أظهرت النتائج من خلال الجدول (1) عدم وجود فرق معنوي على مستوى (P>0.05) بين المجاميع المختلفة

2-2 نتائج فحص الأليزا بعمر 14 يوم: أظهرت النتائج الموضحة في الجدول (2) عدم وجود فرق معنوي في مستوى الأجسام المضادة بين أفراخ التجربة على مستوى ( $P \geq 0.05$ ) في هذا العمر.

2-3 نتائج فحص الأليزا بعمر 24 يوم: يتبين من خلال الجدول (2) تفوق المعاملة الثانية على جميع معاملات التجربة حيث أن تفوقها على المعاملة الرابعة كان حسابيا، في حين أظهرت المعاملة الثالثة أقل قيمة في مستوى الاضداد رغم أنها لم تظهر فرق معنوي مع المعاملة الأولى.

3-4 نتائج فحص الأليزا بعمر 34 يوم: أظهرت النتائج كما في جدول (2) تفوق المعاملة الأولى والثانية، عند مستوى ( $P \leq 0.05$ ) على المعاملتين الثالثة والرابعة، في حين كان التفوق للمعاملة الأولى حسابيا على المعاملة الثانية- والمعاملة الرابعة تفوقت معنويا على المعاملة الثالثة.

4-4 نتائج فحص الأليزا بعمر 44 يوم: أظهرت النتائج من خلال جدول (2) تفوق المعاملة الثانية معنويا على مستوى ( $P < 0.05$ ) على المعاملتين الثالثة والرابعة اللتان لم تظهرا فارقا معنويا بينهما في حين أختفى الفارق المعنوي بين المعاملة الأولى والرابعة.

1-4 نتائج فحص الألباط المناعي بعمر 34 يوم: أظهرت النتائج من خلال الجدول 1 وجود فرق معنوي بين معدلات مستوى الاجسام المضادة الموجودة في الافراخ بعمر 34 يوم على مستوى ( $P \leq 0.05$ ) حيث كان مستوى الأجسام المضادة في المجموعة الأولى والثانية والرابعة أعلى من مستوى الأجسام المضادة في المجموعة الثالثة. جدول 4 يوضح المعدل والخطأ القياسي لمعيار أضداد مرض نيوكاسل بأختبار أثباط التلازن بعمر 34 يوم

1-5 نتائج فحص الألباط المناعي بعمر 44 يوم: أظهرت نتائج فحص الألباط المناعي الموضحة في جدول (1) وجود فرق معنوي بين معدلات مستوى الاجسام المضادة الموجودة في الافراخ بعمر 44 يوم على مستوى ( $P \leq 0.05$ ) حيث كان مستوى الأجسام المضادة في المجموعة الأولى أعلى من مستوى الأجسام المضادة في المجموعة الثالثة و كان هنالك فرق معنوي بين المجموعة الثانية والمجموعتين الثالثة والرابعة ولم يكن هنالك فرق بين المجموعتين الثالثة والرابعة- نتائج فحص الأليزا.

2-1 نتائج فحص الأليزا بعمر 2 يوم: معدل الأجسام المضادة لمرض النيوكاسل المنقلة من الأمهات الى الأفراخ بعمر 1 يوم موضح في الجدول (2) حيث أظهرت النتائج عدم وجود فرق معنوي بين المجموعات في مستوى الأجسام المضادة لمرض النيوكاسل ( $p > 0.05$ )

#### الجدول (2) نتائج تشخيص معيار الاجسام المضادة لفايروس نيوكاسل باستخدام فحص ELISA لكل التجربة .

|     | يوم 44   |        | يوم 43            |        | يوم 24            |       | يوم 14             |                   | يوم 2   |                   | المجاميع |
|-----|----------|--------|-------------------|--------|-------------------|-------|--------------------|-------------------|---------|-------------------|----------|
|     | Elisa    | HI     | Elisa             | HI     | Elisa             | HI    | Elisa              | HI                | Elisa   | HI                |          |
| M   | ab       | a      | 8388 <sup>a</sup> | 70.4   | 2856 <sup>b</sup> | a     | 388.8 <sup>a</sup> | 7.6               | 7556    | 20.4 <sup>a</sup> | 1م       |
| ±SE | 1939.267 | 38.400 | 315.426           | 15.676 | 119.105           | 1.959 | 58.407             | 2.400             | 461.265 | 5.562             |          |
| M   | a        | a      | 8088              | 83.2   | 2200 <sup>b</sup> | b     | 455                | 10.4 <sup>a</sup> | 7900    | 21.1              | 2م       |
| ±SE | 2680.029 | 31.353 | 620.478           | 19.200 | 174.051           | 9.600 | 52.345             | 2.400             | 343.511 | 4.456             |          |
| M   | C        | b      | 3420              | 32     | 4112 <sup>a</sup> | a     | 573.2 <sup>a</sup> | 8.8               | 7580    | 21.2              | 3م       |
| ±SE | 425.558  | 17.527 | 291.804           | 8.763  | 390.678           | 4.381 | 148.796            | 1.959             | 20.000  | 4.983             |          |
| M   | bc       | b      | 4766              | 64     | 3644 <sup>a</sup> | a     | 652                | 6.8               | 8040    | 20.8              | 4م       |
| ±SE | +693.668 | 23.515 | 256.234           | 17.527 | 256.000           | 3.919 | 155.993            | 2.498             | 273.130 | 5.146             |          |

M تمثل معدل المعيار ألجمي لأضداد نيوكاسل، العدد الكلي 20، الحروف a و b و c : تمثل وجود فروقات معنوية تحت مستوي احتمالية  $P < 0.05$  بين المجاميع بين المجاميع باختلاف الحروف عمودياً، ±SE تمثل الخطأ القياسي

#### المناقشة

تم استخدام برامج لقاحية مختلفه لمقارنة معيار الاجسام المضادة لحمة مرض نيوكاسل في فروج اللحم بعمر يومين وحتى عمر 44 يوم وتم قياس المناعة باستخدام اختبار اثباط التلازن الدموي واختبار الاليزا وقد اظهرت نتائج فحص المناعة الامية باختبار اثباط التلازن الدموي عدم وجود فروقات معنوية بين المجاميع وهذا متوقع لان الافراخ مصدرها قطيع امهات واحد وهذا يتفق مع الباحث (13)، كما وأعطى اختبار الاليزا نتائج مماثلة اما في اختبار اثباط التلازن بعمر 14 يوم تبين عدم وجود فرق معنوي بين المجاميع وسجل فرق غير معنويا لصالح المجموعة

الثانية والثالثة وهذا قد يعزى الى المناعة الامومية المكتسبة والتي قد تؤثر على فعالية اللقاح عند اعطائه في الاسابيع الأربعة من العمر وهذا يتفق مع الباحث (2) الذي اشار الى ان المناعة المكتسبة من الامهات تعادل قسم من اللقاح والتداخل يكون واضح ومختلف حسب طريقة اعطاء اللقاح ونوعية العترة المستخدمة في البرنامج التلقيحي وتشابهت نتائج فحص الاليزا مع هذه النتيجة لنفس السبب في عمر 24 يوم ظهر تفوق معنوي لصالح المجموعة الثانية وقد يعود السبب الى حصول استجابة مناعية جيدة نتيجة فعالية اللقاح الزيتي التي تظهر بعد اسبوعين الى ثلاثة اسابيع بعد اعطاء اللقاح الزيتي وهذا ما اشار اليه (14) وكذلك يتفق مع نتائج فحص الاليزا وفي عمر 34 يوم توضح نتائج

في فترات متقاربة وكذلك الحصول على مستوى متوسط من الاجسام المضادة لمرض نيوكاسل الذي لم يرتفع الى المستوى العالي الموجود في المعاملة الثانية وهذا ما توصل اليه (4) الذي اشار بان الفيروسات الحية لها القدرة على اصابة خلايا البلعم الكبير مما يجعلها عرضة للفعل السام للخلايا التائية (CD8, T-cells) الواسم الثامن في الاصابات اللاحقة بينما لا تمتلك المستضدات الفايروسية المبطة مثل هذا الفعل وهذا يفسر المستوى المنخفض من المناعة الخلطية المتحفزة ضد اللقاح الحي ولمرات عديدة مقارنة مع المعاملة الثانية التي استخدم فيها التلقيح الزيتي حيث ان مستضد الحمة يكون موجودا في الانسجة وعملية تحرره من مكان الحقن تكون مستمرة ولكن بصورة بطيئة وتؤدي عملية تحرره بهذه الطريقة الى التحفيز المتواصل للجهاز المناعي لاحداث استجابة مناعية خلطية لمدة طويلة من الزمن (16) وبينت النتائج الحالية ايضا في عمر 44 يوم في فحص الاليزا مطابقة لفحص ايثاط التلازن الدموي HI باستمرار تفوق المجموعة الثانية معنويا على جميع مجاميع التجربة الا ان تفوقها على المجموعة الاولى كان حسابيا في حين لم يسجل فارق معنوي بين المجموعة الثالثة والرابعة رغم تفوق المجموعة الرابعة حسابيا وقد يعود السبب الى التلقيح الاضافي لهذه المجموعة والذي جعل معيار الاضداد يرتفع عما هو عليه في المجموعة الثالثة (3).

فحص HI تأخر معنوي في الاستجابة المناعية في المجموعة الثالثة مقارنة مع المجاميع الأخرى التي لم يظهر فرق معنوي بينها رغم وجود تفوق حسابي لصالح المجموعة الثانية على الأولى والرابعة وقد يعود سبب التفوق الى تحفيز مستوى اعلى من الاضداد نتيجة اللقاح الزيتي، اما سبب انخفاض مستوى الاضداد في المجموعة الثالثة لكون اخر لقاح بماء الشرب هو في عمر 18 يوم والية الحماية التي يقدمها هذا البرنامج تكون قصيرة (15) ونتائج اختبار الاليزا في عمر 34 يوم متقاربه لفحص تثبيط التلازن ولكن الاليزا ادق بسبب حساسيته للمستويات القليلة من الاجسام المضادة المثبطة للتلازن والمعادلة للحمة والمثبنة للمتم والمرسبة لمستضد الحمة في حين ان اختبار HI يقيس ويحدد فقط الاضداد المثبطة للتلازن دون غيرها حيث تبين تفوق المعاملة الاولى والثانية معنويا على الثالثة والرابعة ولكن المجموعة الرابعة تفوقت معنويا على المجموعة الثالثة ( المتأخرة مناعيا ) وقد يعود سبب التفوق هذا هو تقارب المدة بين التلقيح وقياس مستوى الاجسام المناعية للمجموعة الرابعة. في عمر 44 يوم تبين نتائج فحص HI تفوق المعاملة الاولى والثانية معنويا على المجموعتين الثالثة والرابعة والتتان لم يظهر فرق معنوي بينهما كذلك لم يكن هناك فارق معنوي بين البرنامج التلقيحي الاول والثاني في المجموعتين الاولى والثانية وقد يكون السبب في تفوق البرنامج الاول هو تكرار اللقاحات

#### المصادر

- 1-Young M, Alders R, Grimes S, Spradbrow P, Dials P da Silva A, LoboQ, (2002). Controlling Newcastle disease in Village chickens, Alaboratory Manual. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), Monograph. 87: 9-142.
- 2-Rahman , M.B. ; Rahman , S.M. ; Kabir , K.H. ; Nazir , N.H. ; Mmin , M. (2004) . Efficacy of V<sub>4</sub>-HR Newcastle disease vaccine in broiler bird in Bangladesh . Inter . J. Poult. Sci. 3(5) :365-369 .
- 3-Alenxander, D.J.(1997). Newcastle disease and other paramyxo viridae infection. In: Disease of poultry, 10<sup>th</sup> 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 .
- 4- فارس ، بشرى حمزة (2006) . تقييم برامج لقاحية مختلفة للقاح فايروس مرض نيوكاسل المبطل المرسب بالشب في دجاج اللحم . رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري - جامعة بغداد .
- 5- زاهد ، عبد الامير ، الشمري ، صبيحة عبد علي (2009) . تلقيح اجنة الدجاج ضد مرض نيوكاسل باستخدام اللقاح المبطل الزيتي المحضر محليا في العراق وقائع المؤتمر التاسع كلية الطب البيطري/جامعة بغداد/العدد الاول .
- 6-Butcher , D. G. and Miles , R.D. (2003) . The avian Immune system. Institute of food and Agricultural sciences (IFAS) . Univesity of Florida .
- 7-Uyttebroek, E., R. Ducatelle, and D. J. Alexander. 1991. Steatorrhea and pancreatic lesions in *Neophema* parrots with paramyxovirus serotype 3 infection. *Vlaams Diergeneeskd Tijdschr* 60:55-58.
- 8-Ritchie , H. and Harrison , S. (2004) . Paramyxoviridae Avian medicine , section . Five , Disease Etiologies . PP.920-928 .
- 9-Spradbrow, P.B. (1996). Protection against important disease including Newcastle disease. Proceeding of the 20<sup>th</sup>. World poultry congress, New Delhi, India. 1: 31- 34.
- 10-Spradbrow, P.B. (1993) .Newcastle disease in village chickens. *Poult. sci.* 5:57-96.
- 11-Zahid, A. H. (1997). Field evaluation of Newcastle disease vaccines in broiler. *Iraqi J. Microbiol.* 9: 21-26.
- 12-Stone, H. D. (1988). Optimization of hydrophile – lipophile balance for improved efficacy of Newcastle disease and avian influenza oil – emulsion vaccines. *Avian Dis.* 32: 68- 73.
- 13-Haddad E.E., Whitfill C.E., Avakian A.P., Ricks C.A., Andrews P.D., Thoma J.A. & Wakenell P.S. (1997). Efficacy of a novel infectious bursal disease virus immune complex vaccine in broiler chickens. *Avian Dis.*, 41, 882–889.
- 14-خضير ، محاسن عبد الرزاق (2006) .دراسة مقارنة لتقييم اللقاحات المبطة ضد مرض نيوكاسل المنتجة محليا في افراخ اللحم .رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري – جامعة بغداد
- 15-Hassan, S. M. ; AL-Hafez, H. A. K and Shukri, M. M.(2000).Potency of Six commercial live vaccines against Iraqi serologic subtypes of infectious bursa disease virus. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, Vol. 13, No.2.
- 16- Hussain, I., M.A. Zahoor, M.H. Rasool, M. Shahid Mahmood, M.K. Mansoor and M.N. Riaz.(2003).