دراسة التفاعلات ما بعد التلقيح بلقاح النيوكاسل الحي والمقتول في فروج اللحم

محمد أمين محمود عبد الله المولى احمد عبد السلام سحري
كلية الطب البيطري -جامعة الموصل المستشفى البيطري- نينوى
Amen008@yahoo.com. Ahmedsehry@yahoo.co

الخلاصة

هدفت دراستنا الحالية إلى دراسة التفاعلات الناتجة عن التلقيح بلقاح مرض النيوكاسل الحي المضعف والمقتول في فروج اللحم حيث تم اخذ قاعتين لفروج اللحم في مدينة الموصل مختلفتين في برنامجهم أللقاحي ضد مرض النيوكاسل الأولى في منطقة القياره عدد الأفراخ المرباه 2400 فرخ فروج لحم عرق روز والتي اعتمدت في برنامجها أللقاحي على لقاح النيوكاسل الحي المضعف ولمرتين ألتلقيحه الأولى بعمر 7 أيام والثانية بعمر 18 يوما وعن طريق ماء الشرب,أما القاعة الثانية فكانت في منطقة تلعفر عدد الأفراخ المرباه 2500 فرخ فروج لحم عرق روز والتي اعتمدت قي برنامجها أللقاحي على اللقاح المقتول عن طريق الحقن تحت الجلد بعمر 3 أيام واللقاح الحي المضعف عن طريق ماء الشرب بعمر 10 أيام.تم تقييم مستوى الأجسام المضادة الناتجة بعد كل تلقيحه عن طريق إجراء اختبار تثبيط التلازن الدموي حيث تم جمع عينات الدم من القاعة الأولى بعمر 10 و 21 يوما أما القاعة الثانية فقد تم جمع عينات الدم بعمر 13 و 15 يوما حيث تم جمع الدم بطريقة الذبح لخمسة أفراخ لكل مره أجرينا فيها الفحص, أما عينات الأعضاء والتي شملت (الطحال وجراب فابريشيا والتوثة) فقد تم جمعها أثناء ذبح الأفراخ بنفس الأعمار.أظهرت نتائج اختبار تثبيط التلازن الدموي وجود اختلاف معنوي بين البرنامجين اللقاحيين حيث كان معامل الارتباط R^2 للقاعة الأولى 0,157 وR^2 المعدلة 0,052 عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) أما القاعة الثانية فكان معامل الارتباط R^2 0,006 وR^2 المعدلة 0,049 عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) حيث أن البرنامج أللقاحي للقاعة الأولى أفضل من البرنامج أللقاحي للقاعة الثانية .أظهرت دراسة المقاطع النسجية للعينات الماخوذه من القاعة الأولى وجود تغيرات نسجية في الأعضاء المدروسة فقد لوحظ في الطحال وجود احتقان الأوعية الدموية في منطقة اللب الأحمر مع وجود الوذمة كما لوحظ في جراب فابريشيا وجود نزف داخل اللب لبعض الجريبات كما لوحظ وجود زيادة في الخلايا اللمفية في منطقة اللب كذلك الوذمة بين الفصوص بعمر (21) يوما, في التوثة لوحظت التغيرات بعمر (21) يوما وكانت وجود النزف داخل اللب, أما القاعة الثانية فلوحظ وجود تغيرات نسجية في الطحال وجراب فابريشيا فقط ولم تظهر أية تغيرات في غدة التوثة وكانت التغيرات بعد التلقيحة الثانية اشد ففي الطحال لوحظ بعمر (15) يوما زيادة الخلايا اللمفية في منطقة اللب الأبيض و في جراب فابريشيا لوحظ بعمر (15) يوما النزف بين الفصوص وداخل منطقة اللب مع استنزاف الخلايا اللمفية في منطقة اللب.نستنتج من هذه الدراسة أن إعطاء اللقاح الحي المضعف لمرض النيوكاسل لأفراخ فروج اللحم في بداية التربية أفضل من إعطاء اللقاح المقتول حيث يؤدي إلى رفع مستوى مناعة الأفراخ ضد المرض, كذلك استخدام لقاح مرض النيوكاسل بنوعية (الحي المضعف والمقتول) يؤدي إلى إحداث تغيرات نسجية في الأعضاء اللمفية الأساسية في الجسم (الطحال و جراب فابريشيا والتوثة).النيوكاسل تفاعلات اللقاح.

الكلمات المفتاحية: التفاعلات ما بعد التلقيح ، لقاح النيوكاسل الحي ، لقاح النيوكاسل المقتول ، فروج اللحم.

Study of post-vaccination reaction of live and killed Newcastle vaccine in broiler chicken

M.A. M. A. Al-Mola. A. A. Sehry
Coll. of Vet. Med.-Univ. of Mosul Vet. hospital -Ninawa

Abstract

The purpose of this research is to study the reactions resulting from the vaccinations program of broilers by the live attenuated and killed Newcastle disease vaccine where they were taking two broiler chicken halls in Mosul city that different in their Newcastle disease vaccine program. The first hall in Qayyarah place, the number of chicks breeding are 2400 chicks of Rose sweat, which was use the live attenuated vaccine against Newcastle disease twice first time in age of 7 days and the second time at age of 18 days by drinking water, while the second hall was in the area of Talafar, the number of chicks breeding are 2500 chicks of Rose sweat and which was use the killed vaccine in 3 days old by subcutaneous injection and live attenuated vaccine by drinking water in age 10 days.The level of antibodies formed after each vaccination are estimated by heamagglutination inhibition test. The blood samples were collected from the first hall in aged 10 and 21 days while the second hall has been collecting blood samples in aged 13 and 15 days. Blood was collected by slaughter route from five chicks in each time to making the test. Organ samples (Spleen, Bursa of Fabricia and Thymus) were collected during slaughtering chicks in the same ages. The results of heamagglutination inhibition test showed significant difference between the two vaccination

programs where the correlation coefficient R^2 of the first program are 0.157 and adjusted R^2 0.052 at the level of probability (P <0.05) The second program was the correlation coefficient R^2 0.006 and adjusted R^2 0.049 at the level of probability (P <0.05), where that the vaccination program of the first hall are better than the vaccination program of second hall. The histopathological study of samples which taken from first hall in the spleen showed presence of congestion of blood vessels in the red pulp with the presence of edema , in bursa of Fabricia presence hemorrhage in the pulp for some follicles also noted an increase in lymphocytes in the pulp as well as edema between the lobes at age (21) days, in Thymus observed changes at age (21) days was the presence of bleeding inside the pulp, while the second hall was observed in the Spleen and Bursa of Fabricia just did not show any changes in the Thymus and the changes showed after second vaccination, the spleen was observed at (15) days increased lymphocytes in the white pulp and in Bursa of Fabricia are observed at age (15) days show bleeding between the lobes and inside the pulp with the depletion of lymphocytes in the pulp. We conclude from this study that given the live attenuated vaccine for Newcastle disease to broiler chicken at the beginning of breeding is better than giving the killed vaccine so where lead to rise the level of immunity of the chicks against the Newcastle disease, as well as the use of two type of Newcastle disease vaccine (live attenuated and killed) leads to occurrence the histological changes in the lymphoid organs (Spleen and Bursa of Fabricia and Thymus).

Key words: Newcastle vaccine reaction , broiler.

المقدمة

يعد مرض النيوكاسل من الأمراض الفيروسية الخطيرة يسببه عتره ضارية يطلق عليها Avian paramyxovirus type 1 (APMV-1) جنس Avulavirus تحت العائلة Paramyxovirinae, عائلة Paramyxoviridae (1) فيروس مرض النيوكاسل عبارة عن خيط واحد, غير مقسم , مغلق , ذو قطبية سلبية (2) إن أهم الخصائص المميزة للسلالات المختلفة لفيروس مرض النيوكاسل هي التباين الشديد في الإمراضية للدجاج وقد قسم الباحث (3) أشكال مرض النيوكاسل إلى خمسة أشكال pathotypes اعتمادا على العلامات السريرية المشاهدة وهي: الشكل الاول شديد الإمراضية وتكون آفات الأمعاء نزفية يطلق عليه Viscerotropic velogenic. الشكل الثاني يتميز بارتفاع نسبة الهلاكات ويصيب الجهاز التنفسي والعصبي يطلق عليه Neurotropic velogenic . الشكل الثالث يتميز بوجود علامات تنفسية وعلامات عصبية في بعض الأحيان، ونسبة هلاكات منخفضة يطلق عليهMesogenic. الشكل الرابع نموذج يتميز بالتهابات الجهاز التنفسي الخفيفة أو دون السريرية يطلق علية Lentogenic or respiratory . الشكل الخامس يتكون عادة من عدوى معوية تحت الإكلينيكي يطلق علية Asymptomatic. تقسم لقاحات مرض النيوكاسل إلى نوعين رئيسيين هما:1-اللقاح الحي المضعف Live attenuated vaccine من الشكلين المرضيين lentogenic and mesogenic (4). 2- اللقاح المقتول Killed vaccine والذي يتم تحضيره في أجنة بيض الدجاج على السائل اللقانتي والمضاف له الفورمالين أو البروبولاكتون مع العامل المساعد carrier adjuvant(5).إنّ فشل عملية التلقيح ضد مرض النيوكاسل يعود لعدة عوامل منها ضراوة العتر المسببة للمرض ونوع العترة اللقاحية وطريقة إعطاء اللقاح ووجود مثبطات مناعية , فضلا عن عدم إتباع برنامج لقاحي جيد يؤدي إلى عدم القدرة في السيطرة على المرض (6).ولانتشار مرض النيوكاسل في العراق وانتشار اللقاحات التجارية في الأسواق المحلية وعدم التزام المربين ببرامج التحصين واعتمادهم على برامج تلقيح باجتهادات شخصية ارتأينا إلى إجراء هذا البحث لغرض تقييم مستوى الأجسام المضادة المتكونة بعد كل تلقيحه في البرنامج أللقاحي المتبع وكذلك معرفة تأثير كل لقاح على حدا على الأعضاء اللمفية الرئيسية في الجسم (الطحال وجراب فابريشيا والتوثة).

المواد وطرائق العمل

تم اختيار قاعتين لفروج اللحم في مدينة الموصل والتي تعتمد في برنامجها أللقاحي على طريقتين مختلفتين : الأولى في منطقة القياره عدد الأفراخ المرباه 2400 فرخ فروج لحم عرق روز والتي اعتمدت في برنامجها أللقاحي على لقاح النيوكاسل الحي المضعف ولمرتين ألتلقيحه الأولى بعمر 7 أيام والثانية بعمر 18 يوم وعن طريق ماء الشرب. أما القاعة الثانية فكانت في منطقة تلعفر عدد الأفراخ المرباه 2500 فرخ فروج لحم عرق روز والتي اعتمدت قي برنامجها أللقاحي على اللقاح الميت عن طريق الحقن تحت الجلد بعمر 3 أيام واللقاح الحي المضعف عن طريق ماء الشرب بعمر 10 أيام.

عينات الدم : تم جمع عينات الدم من القاعة الأولى بعمر 10 و 21 يوم أما القاعة الثانية فقد تم جمع الدم بعمر 13 و 15 يوم لغرض معرفة مستوى الأجسام المضادة المتكونة بعد كل تلقيحه بطريقة تثبيط التلازن الدموي (HI) Haemagglutination inhibition test حيث تم جمع الدم لخمسة أفراخ من كل مجموعة بطريقة الذبح ولكل مره أجرينا فيها الفحص حيث تم وضع الدم في أنابيب اختبار زجاجية نظيفة ومعقمة وخالية من مانع التخثر وبصوره مائلة حيث تم جمع المصل وحفظة بالتجميد في أنابيب اختبار نظيفة ومعقمة تحت درجة حرارة(-20) لحين إجراء اختبار تثبيط التلازن الدموي. (HI) نوع B ثنائي التخفيف (7).

الفحص النسجي : أما عينات الأعضاء والتي شملت (الطحال وجراب فابريشيا والتوثة) فقد تم جمعها أثناء ذبح الأفراخ حيث تم وضعها في علب بلاستيكية حاوية على محلول الفورمالين الدارئ المتعادل 10% لحين إجراء التقطيع النسجي عليها وتم حفظها على الأقل لمدة 72 ساعة بعد ذلك تم تحضير شرائح نسجية بسمك (5) مايكرون باستخدام جهاز المشراح ثم تم صبغ الشرائح بصبغة الهيماتوكسلين-الأيوسين(8).التحليل الإحصائي : تم تحليل نتائج اختبار تثبيط التلازن الدموي إحصائياً باستخدام اختبار الانحدار الخطي لتحديد الاختلافات الإحصائية بين المجموعتين عن مستوى معنوية ($P<0.05$) باستخدام نظام SPSS بحسب طريقة الباحث (9).

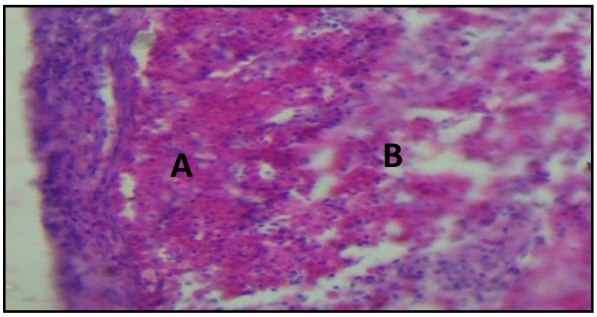
النتائج

اختبار تثبيط التلازن الدموي : أظهرت نتائج اختبار تثبيط التلازن الدموي وجود اختلاف معنوي بين البرنامجين اللقاحيين حيث كان معامل الارتباط R^2 للقاعة الأولى 0,157 وR^2 المعدلة 0,052 عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) أما القاعة الثانية فكان معامل الارتباط R^2 0,006 وR^2 المعدلة 0,049 عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) وكما موضح في الجدول التالي:

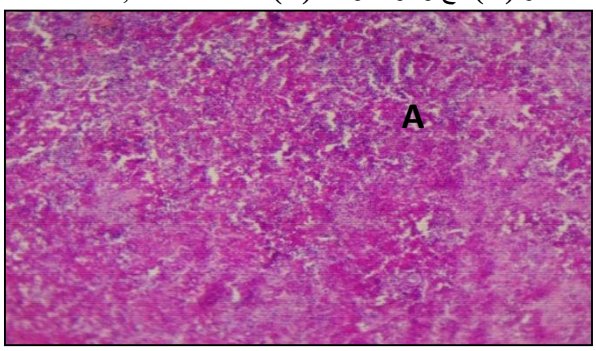
الجدول يوضح نتائج اختبار تثبيط التلازن الدموي

البرنامج	الأيام	R^2 المعدل ± الخطأ القياسي	R^2 المعدلة	
الأول	7	10,5 ± 25,6	0,157	0,052
	18	23,5 ± 73,6		
الثاني	3	1,9 ± 8,8	0,006	0,049
	10	10,8 ± 38,4		

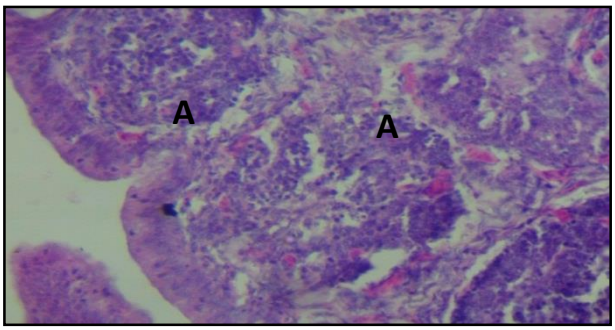
الفحص النسجي : القاعة الأولى : أظهرت نتائج الفحص النسجي وجود تغيرات نسجية في الأعضاء المدروسة فقد لوحظ في الطحال وجود احتقان الأوعية الدموية في منطقة اللب الأحمر مع الوذمة كما مبين في الشكل (1) و(2) كما لوحظ في جراب فابريشيا بعمر (10) أيام وجود نزف داخل اللب لبعض الجريبات الشكل (3), أما بعمر (21) يوم لوحظ وجود زيادة في الخلايا اللمفية في منطقة اللب كذلك الوذمة بين الفصوص الشكل (4), في التوثة لوحظت التغيرات بعمر (21) يوما وكانت وجود النزف داخل اللب الشكل (5).أما القاعة الثانية : أظهرت نتائج الفحص النسجي وجود تغيرات نسجية في الطحال وجراب فابريشيا فقط ولم تظهر أية تغيرات في غدة التوثة وكانت التغيرات بعد التلقيحة الثانية ففي الطحال لوحظ بعمر (15) يوما زيادة الخلايا اللمفية في منطقة اللب الأبيض الشكل (6) أما في جراب فابريشيا فلوحظ بعمر (15) يوما النزف بين الفصوص وداخل منطقة اللب مع استنزاف الخلايا اللمفية في منطقة اللب الشكل (7).



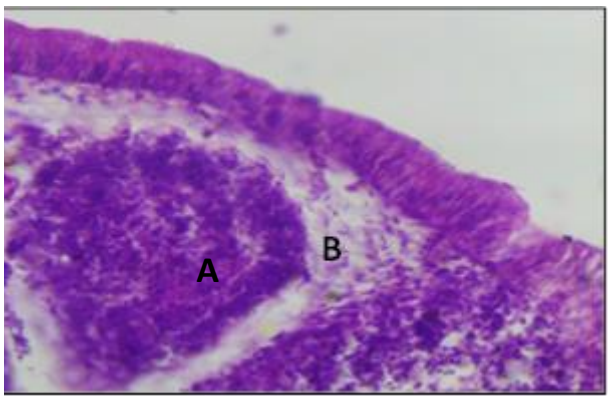
شكل (1) صوره نسجية لطحال فرخ بعمر (10) أيام من القاعة الأولى تظهر وجود احتقان الأوعية الدموية في منطقة اللب الأحمر (A) مع وجود الوذمة (B) الصبغة X280,H&E



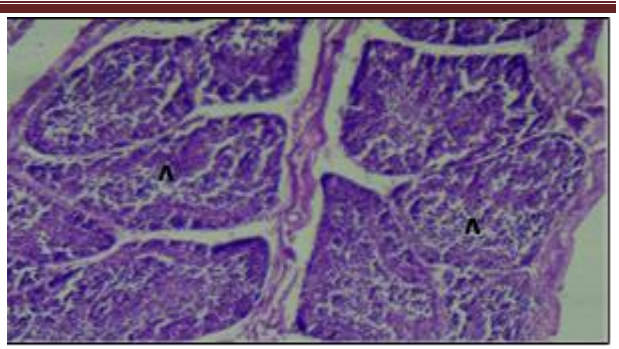
شكل (2) صوره نسجية لطحال فرخ بعمر (21) يوما من القاعة الأولى تظهر وجود احتقان شديد في الأوعية الدموية في منطقة اللب الأحمر(A) الصبغة X68,H&E



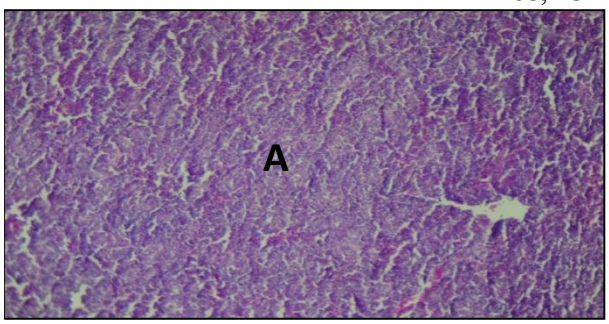
شكل (3) صوره نسجية لجراب فابريشيا لفرخ بعمر (10) أيام من القاعة الأولى تظهر وجود نزف داخل اللب لبعض الجريبات (A) الصبغة X280,H&E



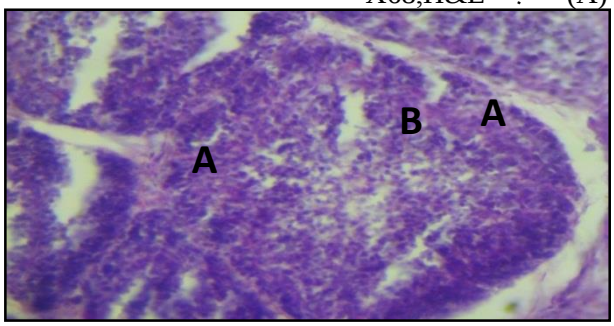
شكل (4) صوره نسجية لجراب فابريشيا لفرخ بعمر(21) يوما من القاعة الأولى تظهر وجود زيادة في الخلايا اللمفية في منطقة اللب (A) الوذمة بين الفصوص(B) الصبغة X280,H&E



شكل (5) صوره نسجية لتوثة فرخ بعمر(21) يوما من القاعة الأولى يلاحظ وجود النزف داخل اللب (A) الصبغة X68,H&E



شكل (6) صوره نسجية لطحال فرخ بعمر (15) يوما من القاعة الثانية يلاحظ فيه زيادة الخلايا اللمفية في منطقة اللب الأبيض (A) الصبغة X68,H&E



شكل (7) صوره نسجية لجراب فابريشيا فرخ بعمر(15) يوما من القاعة الثانية يلاحظ النزف بين الفصوص وداخل منطقة اللب (A) استنزاف الخلايا اللمفية في منطقة اللب (B) الصبغة X280,H&E

المناقشة

يعتبر مرض النيوكاسل من الأمراض الفيروسية الخطيرة والمهمة والتي تسبب خسائر اقتصادية (10) والمنتشرة في العراق عموما ومحافظة نينوى خصوصا لهذا يجب على مربي الدواجن اخذ هذا المرض بنظر الاعتبار من وضع برامج لقاحية محكمة وإجراءات صحية جيدة لغرض تقليل انتشار هذا المرض والاستعانة بذوي الاختصاص من الأطباء البيطريين لتلافي حدوث المرض.إن الأجسام المضادة المتكونة عبارة عن بروتين يستنفذ من الجسم ولهذا زيادة استخدام اللقاحات تؤدي إلى نتائج عكسية منها قلة الإنتاج. يعد تلقيح الدجاج ضد مرض النيوكاسل في البلدان المستوطنة بالمرض وخاصة العتر الضارية شائعا وتعتمد العتر اللقاحية المستخدمة على شدة العتر المستوطنة في المنطقة (11) ولهذا يعتبر إجراء التلقيح إجراءا وقائيا تكامليا من الضروري تنفيذه دون أي تأخير لتحفيز الاستجابة المناعية الدفاعية التي لها القدرة على تقليل أو منع الخسائر الاقتصادية المتسببة من الإصابات الفيروسية الحقلية الضارية(12).أظهرت نتائج اختبار تثبيط التلازن وجود اختلاف معنوي بين البرنامجين اللقاحيين المتبعين عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) حيث يعتبر البرنامج الأول والمستخدم فيه اللقاح الحي فقط أفضل من البرنامج الثاني لان الحقل الثاني ظهرت فيه بعض حالات الإصابة بمرض النيوكاسل بعمر 26 يوما فيما لم تظهر أية إصابات في الحقل الأول وهذا ينطبق مع الباحث (13) الذي أشار في بحثه إلى أن الحقل الملقح باللقاح المقتول ثم اللقاح الحي المضعف ظهرت فيه الإصابة فيما لم تظهر بالحقل الملقح باللقاح الحي المضعف,وهذا قد يرجع إلى انخفاض في مستوى الأضداد المتكونه بعد التلقيح ضد المرض (14). وتختلف الاستجابة المناعية بعد التلقيح حسب نوع العتر المستخدمة وحسب الطريقة المستخدمة في التلقيح (15) . تبين من دراسة المقاطع النسجية للأعضاء المأخوذة وجود تغيرات بسيطة تتراوح شدتها حسب نوع اللقاح والفترة المأخوذ فيها النموذج حيث أن حدوث أي تغيرات نسجية بعد التلقيح يعد أمر طبيعي فالفيروس الداخل للجسم عن طريق التلقيح يعتبر جسم غريب لذا على جسم الكائن الحي أن يستجيب لهذا المتغير ويحاول الدفاع عن نفسه بطريقة أو بأخرى فتكون التغيرات على مستوى الخلايا ونتيجة لهذه اللقاحات تحدث لدينا استجابات مناعية متخصصة وأخرى غير متخصصة (17,16).ففي الطحال لوحظ احتقان الأوعية الدموية في منطقة اللب الأحمر مع زيادة في أعداد الخلايا اللمفية في منطقة اللب الأبيض وهذا قد يعود إلى إنتاج الأجسام المضادة بعد تفاعل المستضدات اللقاحية داخل الجريبات(18) أما في جراب فابريشيا فقد لوحظ النزف الوذمة والزيادة في الخلايا اللمفية في منطقة اللب فهو يعود إلى تأثير لقاح مرض النيوكاسل الذي يتكاثر داخل الأعضاء اللمفية وتكوين الأجسام المضادة (7) أما في الحقل الثاني فقد لوحظ وجود النزف مع استنزاف الخلايا اللمفية في منطقة اللب وهذا يعود إلى انخفاض تحفيز الخلايا اللمفية في جراب فابريشيا على إنتاج أجسام مضادة وهذا ما لوحظ عند قياس مستوى الأجسام المضادة في هذا الوقت كان منخفضا مقارنة مع الحقل الأول. كما لوحظ في التوثة في الحقل الملقح باللقاح الحي المضعف وجود النزف داخل منطقة اللب وهذا قد يعود إلى تحفيز اللقاح لخلايا الذاكرة الموجودة أصلا في غدة التوثة والتي بدورها تنتج أجساماً مضادة والتي تتخصص إلى خلايا الذاكرة(19).

شكر وتقدير: نتقدم بالشكر والتقدير إلى عمادة كلية الطب البيطري جامعة الموصل وفرع الأمراض وأمراض الدواجن لمساعدتنا في انجاز البحث.

المصادر

1-Miller,P.j., Afonso, C.L., Spackman, E., Scott, M.A., Pedersen,J.C., Senne,D.A., Brown, J.D., Fuller, C.M., Uhart, M.M., Karesh, W.B., Browen,I.H., Alexander, D.J., and Swayne, D.E. (2010).Evidence for a New Avian Paramyxovirus Serotype-10 Detected in Rockhopper Penguins from the Falkland Islands. J. Virol., 84 (21), 11496–11504.

2-Alexander, D.J. Newcastle disease, other avian paramyxoviruses, and pneumovirus infections. In: Saif JM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE, editors. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa State University Press; 2003. p. 63–99.

3-Alexander, D.J & Senne, D.A. (2008), Newcastle Disease and Other Avian Paramyxoviruses. *In*: A Laboratory Manual for the Isolation, Identification and Characterization of Avian Pathogens, Dufour-Zavala L. (Editor in Chief) Swayne D.E., Glisson J.R., Jackwood M.W., Pearson J.E., Reed W.M, Woolcock P.R., 4th ed., American Association of Avian Pathologists, Athens, GA, 135–141.

4-Borland, L. and W. H. Allan.(1980). Laboratory tests for comparinglive lentogenic Newcastle disease vaccines. *Avian Pathol*9:45-59.

5-Cross, G. M. (1988). Newcastle disease-vaccine production. In D. 1.Alexander (ed.). Newcastle Disease. Kluwer Academic Publishers:Boston, MA, 333-346.

6-Mark, C., Range, G. and whittle, R.(2006),newcastle disease vaccination program,Queenlands.summary of requirment for poultry in Queenland, Queenland the smart state. version{Internet} 1,pp1-4.

7-ساوا, مؤيد إبراهيم.(1986).مدخل إلى علم المناعة البيطرية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي,كلية الطب البيطري ,جامعة الموصل.

8-Samuelson, D. A. (2007).Text book of Veterinary histology. Saunders. St.Louis, Missour.pp:1-3.

9-جودة, محفوظ.(2008). التحليل الإحصائي المتقدم باستخدام SPSS.دار الأوائل للنشر.الطبعة الأولى.عمان,الأردن.

10-Kapczynski DR, Martin A, Haddad EE, King DJ.(2012). Protection from clinical disease against three highly virulent strains of Newcastle disease virus after in ovo application of an antibody-antigen complex vaccine in maternal antibody-positive chickens. Avian Dis. Sep;56(3):555-60.

11-Senne, D.A, King, D.J, Kapczynski, D.R.(2004). Control of Newcastle disease by vaccination.119:165-70 . U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, National Veterinary Services Laboratories, Ames, Iowa 50010, USA. dennis.a.senne@aphis.usda.gov.

12-ألطرودي ، بشرى إسماعيل ، (2004) ، أمراض الدواجن (الجزء العملي) ، منشورات جامعة حلب / كلية الزراعة ، مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية ، ص 19- 49.

13-حسن, قصي عارف قاسم.(2009). قياس المستوى المناعي في أفراخ فروج اللحم الملقحة ببرامج مختلفة ضد مرض نيوكاسل في منطقة قرة قوش.تقرير دبلوم عالي.كلية الطب البيطري-جامعة الموصل.

14-Hassanzadeh M. and .Bozorgmeri M.H fard.(2004).Aserological study of Newcastle Disease in pre- and post- vaccinated Village chickens in north of Iran.Internaitional journal of poultry science.,3(10):658-661.

15-Alexander, D. (2003). Newcastle disease, other avian paramyxoviruses,and pneumovirus infections. In Y.M. Saif, H.J. Barnes, J.R. Glisson,A.M. Fadly, L.R. McDougald & D. Swayne (Eds.), Diseases of Poultry (pp. 63_99). Ames: Iowa State University Press.

16-Stites ,D. Stobo, J.and Wells, J.(1987). Basic and Clinical Immunology. 6 ed. Norwalk, CT:Appleton & Lange.

17-Janeway, C.Travers, P. and Walport, M.(1999). Immunobiology. 4 ed. New York: Elsevier Science Ltd/ Garland Publishing.

18-Herenda, D. C. and Franco, D. A.(1996).Poultry diseases and meat hygiene,acolar atlas.1st.ed.Iowa state university. Press ames, Iowa.pp:32.

19-Sharma,J.M.(2003).The avian Immune system,In:Saif,Y.M.(Ed.) Disease of poultry.Iowa state Press, Black well publishing company,Ames,IA.PP:5-16.