



دراسة مقارنة لتلقيح أجنة الدجاج والأفراخ الفاقسة ضد مرض نيوكاسل

عبد الأمير حسين زاهد
حسبية عباس عمران
ماجد يونس جبر الساعدي
ابتسام جواد علي العبيدي

فرع الدواجن والامراض، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد
E-mail: abudulameer_H_zahid@yahoo.com

الخلاصة:

استخدمت 240 بيضة مخصبة من أمهات دجاج لحم فاوبرو قسمت إلى أربعة مجاميع متساوية ثم حضنت، لقحت المجموع الأولى بلقاح نيوكاسل وبعمر 18 يوما من الحضن، وحقنت المجموعة الرابعة بمحلول دارى الفوسفات المعقم واتخذت كمجموعة سيطرة أما المجموعتين الثانية والثالثة فتركت بدون لقاح لحين الفقس وبعد الفقس تم اخذ 50 فرخ من كل مجموعة، المجموعة الأولى التي لقحت بطريقة تلقيح الأجنة، المجموعة الثانية لقحت بالرش بعمر يوم واحد بلقاح نيوكاسل ولقحت بماء الشرب بعمر 10 أو 20 يوما بلقاح نيوكاسل أما المجموعة الثالثة فلقحت بالرش بعمر يوم واحد بلقاح نيوكاسل وبعمر 7 أيام لقحت بلقاح نيوكاسل المبطل الزيتي بطريقة الحقن تحت الجلد، أما المجموعة الرابعة تركت بدون تلقيح. بينت النتائج إن اللقاح المستخدم في حقن الأجنة لم يكن ذو تأثير سلبي على نسبة الفقس أو على حيوية الأفراخ خلال الأسبوع الأول من الفقس، اجري اختبار اثبات التلازن الدموي واختبار الاليزا لتحديد معيار الأضداد المناعية بعمر 1،7،14،28، يوما لكل المجاميع وكذلك تم استخدام اختبار التحدي لقياس المستوى المناعي للمجاميع الاربعة بعمر 35 يوما وكذلك بعمر 49 يوما باستخدام فايروس نيوكاسل الضاري المعزول محليا من افراخ مصابة بجرعة 10^7 EID للطير الواحد أعطي عن طريق العين والمنخرين والغم وقد بينت نتائج اثبات التلازن الدموي تفوق معنوي للمجموعة الثالثة (الزيتي) في مستوى معيار الأضداد المثبطة لتلازن الدم قبل إجراء اختبار التحدي وبمستوى $P < 0.01$ على المجموعتين الأولى والرابعة وبمستوى $P < 0.05$ على المجموعة الثانية والتي كانت تتفق مع نتائج الاليزا أما اختبار التحدي أظهرت النتائج إن أعلى نسبة نسبة حصانة بالمجموعة الثالثة فقد تفوقت معنويا على المجموعة الرابعة بمستوى $P < 0.01$ إذ أعطت نسبة حماية مقدارها 90% وتفوقت المجموعتان الأولى والثانية معنويا وبمستوى $P < 0.01$ إذ أعطتا نفس نسبة الحماية وهي 70% في حين أعطت المجموعة الرابعة السيطرة نسبة حماية مقدارها 10% وقد بينت الدراسة إن التلقيح باللقاح المبطل الزيتي مسبوق بلقاح حي مضعف عن طريق الرش بعمر يوم واحد هي الطريقة الجيدة والتي أعطت مستوى مناعي عالي مقارنة بالمجاميع الأخرى.

Keyword: Ova+ vaccination+ ND.

Comparative Study of Chick Embryo and Post Hatching Vaccination Against Newcastle Disease

Abdel Ameer H. Zahid
Hasseba A. Omran
Majed Y.J. Al-Saaedy
Ebtisam J. A. Al-Ubaidi

Pathology and Poultry Disease Dep., College of Vet. Med., Baghdad University

Abstract:

Two hundred and fourty chick embryos were used in this study were divided into four equal groups and incubated. The first group was vaccinated with N.D. vaccine at age of 18 days of incubation. The fourth group was injected with sterile phosphate buffered saline and was considered as a control group up to end of experiment. The second and third groups were

left without vaccination until hatching. After hatching fifty chicks of each group were taken as follow, the first group which were vaccinated by in ovo-vaccination methods, the second were vaccinated by spraying at one-day age with ND vaccine followed two times of vaccination at ten and twenty days of age, the third group was vaccinated by spraying method at one-day age then it was vaccinated at age of 7-days with oil inactivated N.D. vaccine. The control group was left without vaccination. The result showed that the vaccine which used in ovo-vaccination had not revealed any negative effect upon the percentage of hatchability rate or upon livability of vaccinated chicks during the first week after hatching. Test of haemagglutination-inhibition (HI) and ELISA were held to define the weekly antibodies levels at 1,7,14,28 for the fourth groups challenge test also was carried onto measure the immunological level for the fourth groups at age of 35 days by using the local isolated velogenic N.D.V. of the affected chicks which given by ocular, nose and oral routs. The result of (HI) test showed that the 3rd group was significantly ($P<0.01$) higher in the level of (HI) titer before the challenge test compare with first group and fourth and showed significantly ($P<0.05$) higher of HI titer then the second these result were adapted with the results of ELISA test. The results of challenge test showed that the protection rate of the 3rd group significantly ($P<0.01$) exceeded upon the 4th group which gave 90% of the protection rate and the 1st and 2nd groups had highly ($P<0.01$) significant protection rate compared with 4th group which they get the same rate of protection 70% at the challenge test whereas the 4th group (control) gave 10% of the protection rate in the challenge test. The study showed that vaccination by oil inactivated vaccine proceeded by a life attenuated vaccine by coarse spraying at one day age was the best method and gave a higher immunological levels comparing with other groups.

المقدمة:

البحث لدراسة هذه التقنية ومقارنتها مع طرائق التلقيح الاخرى كالتلقيح الزيتي تحت الجلد وبالرش وبماء الشرب.

المواد وطرائق العمل:

تم حضن 240 بيضة مخصبة من أمهات دجاج لحم فاوبرو مقسمة إلى أربعة مجاميع متساوية في حاضنة بيض نوع petersim بلجيكية الصنع حتى التفقيس ويعمر 18 يوما من الحضن تم حقن المجموعة الأولى بلقاح نيوكاسل عترة B1 التركية وبجرعة $0.1/10^7$ EID₅₀ مل (6) لكل جنين وتم حقن اللقاح في كيس الامنيون وحسب طريقة (7) وحقنت المجموعة الرابعة بمحلول دارى الفوسفات المعقم، أما المجموعتان الثانية والثالثة فقد تركت بدون تلقيح وبعد الفقس تم تربية 200 فرخه فاقسة وذلك بأخذ 50 فرخه من كل مجموعة وكالاتي:-

المجموعة الأولى: لقحت بلقاح نيوكاسل عترة B1 التركية المعاييرة قبل الفقس بعمر 18 يوما من الحقن وبجرعة $0.1/10^{7.2}$ EID₅₀ مل لكل جنين (6).
المجموعة الثانية: لقحت بعمر يوم واحد بلقاح نيوكاسل عترة B1 التركية عن طريق الرش الخشن وبجرعة $10^{7.2}$ EID₅₀/طير ثم لقحت بلقاح نيوكاسل عترة Lasota التركية بعمر عشرة أيام وبجرعة 10^7 /طير ثم لقحت بلقاح نيوكاسل عترة Lasota

يشكل مرض النيوكاسل خطرا يهدد صناعة الدواجن بالرغم من استعمال الكثير من الطرائق والبرامج اللقاحية للسيطرة على هذا المرض سواء باستخدام اللقاحات الحية او المبطلة (1)، وبسبب اختلاف ضراوة الفايروس فقد اتبعت عدة برامج وطرق مختلفة للسيطرة على المرض (2) لذا كان لابد من حماية الافراخ من التعرض لهذا الفايروس وذلك باستخدام طرائق التلقيح الشائعة والمعروفة على نطاق واسع في حقول الدواجن وهي: ماء الشرب، الضبوي (Aerosol) او الرش (spray) والتقطير بالعين والمنخرين وطريقة الحقن بالعضل او تحت الجلد (3). وتطورت البحوث والدراسات عن اهمية تحقيق الحماية الكافية للافراخ فقد اثبتت الدراسات في السنوات الاخيرة ان لقاح نيوكاسل الحي المضعف يمكن اعطائه عن طريق الحقن في اجنة الدجاج الخالي من بعض المسببات المرضية specific pathogen free (SPF) وذلك بعمر 18 يوما من مدة الحضن كما ان الافراخ التي تفقس من البيض المحقون باللقاح تكون مقاومة للاصابة بفايروس نيوكاسل الضاري (4) وقد اخذت طريقة تلقيح الاجنة حيزا كبيرا بين طرائق التلقيح المتبعة حاليا لما لها من فوائد تشمل مقاومة مبكرة للجنين وحقن جرعة محددة من اللقاح لكل بيضة وتقليل الكلفة مع قلة التلوث (5) ونتيجة لنجاح هذه الطريقة في السيطرة على الامراض الفايروسية وبما تعطيه من حماية ممتازة ضد المرض تم اجراء هذا

الثالثة (اللقاح الزيتي+الرش) أي هلاكات خلال الأسبوع الأول وكما موضح بالجدول (2)، الجدول (3) يوضح نتائج معيار الأضداد المناعية المثبطة للتلازن الدموي لمرض نيوكاسل حين لوحظ أن بعمر يوم واحد عدم وجود فروقات معنوية وبكافة المجاميع ولكن بعمر 7 أيام لوحظ تفوق معنوي للمجموعة الثالثة (مجموعة الزيتي) على المجموعة الأولى (مجموعة التلقيح بالأجنة) وبمستوى ($P < 0.01$) وكذلك تفوق معنوي على المجموعة الرابعة (السيطرة) بمستوى ($P < 0.05$) بينما لوحظ بعمر اسبوعين تفوق معنوي للمجموعة الثانية (التلقيح بماء الشرب) والمجموعة الثالثة على المجموعة الأولى بمستوى ($P < 0.05$) أما بعمر أربعة أسابيع لوحظ التفوق المعنوي للمجموعة الثالثة على المجموعتين الأولى والرابعة وبمستوى ($P < 0.01$) وعلى المجموعة الثانية بمستوى ($P < 0.05$).

أما الجدول (4) يوضح نتائج اختبار الاليزا حيث لوحظ أن أعلى قيمة لفحص الاليزا سجلت بعمر يوم واحد مع عدم وجود فروقات معنوية بين المجاميع، أما بعمر أسبوع لوحظ تفوق معنوي بمستوى ($P < 0.05$) للمجموعة الأولى على المجموعة الثانية فقط، وبعمر أسبوعين لم يلاحظ أي اختلاف معنوي بين المجاميع الأربع، أما بعمر أربعة أسابيع لوحظ وجود ارتفاع معنوي في المجموعة الثالثة على الثانية والرابعة بمستوى ($P < 0.05$) وعلى المجموعة الأولى بمستوى ($P < 0.01$).

والجدول (5) يوضح نتائج اختبار التحدي بعمر 28 يوم إذ أظهرت أفراس المجموعة الرابعة (السيطرة) الهلاكات بعد 48 ساعة من التعرف لفايروس التحدي وبلغت نسبة الهلاكات فيها 90% أما المجموعة الأولى أظهرت الهلاكات بعد 72 ساعة من التعرف للفايروس الضاري وكانت نسبتها 30% أما المجموعة الثانية أظهرت أيضا الهلاكات بعد 72 ساعة وكانت نسبتها 30% أما المجموعة الثالثة كانت نسبة الهلاكات فيها 10% وظهرت بعد اليوم السادس من التعرض للفايروس.

بعمر 20 يوم وبالجرعة السابقة نفسها وبطريقة ماء الشرب .

المجموعة الثالثة: لقحت بعمر يوم واحد بلقاح نيوكاسل عترة B1 عن طريق الرش الخشن بجرعة $10^{7.2} / \text{EID}_{50}$ طير ثم لقحت بلقاح نيوكاسل المبطل الزيتي يحتوي على $0.3/10^9 \text{EID}_{50}$ مل بعمر 7 أيام عن طريق الحقن تحت الجلد S/C وجرعة 0.15 مل لكل فرخ.

إما المجموعة الرابعة: تركت دون تلقيح واعتبرت مجموعة سيطرة.

وقد تم حساب نسبة الفقس بالنسبة للمجموعة الأولى وحسب طريقة (8) وبمايلي: نسبة الفقس = $(100 \times)$.

عدد الأفراس الفاقسة $\frac{\text{عدد البيض المخصب}}{\text{عدد الأفراس الفاقسة}}$ وأيضا حساب حيوية الأفراس خلال 7 أيام من فقسها وحسب (9) وقد اجري اختبار اثبات التلازن الدموي حسب طريقة (10) واختبار الاليزا وحسب تعليمات الشركة المنتجة للعدة بعمر 1، 7، 14، 28 يوما. وكذلك اجري اختبار التحدي Challenge Test وذلك بإعطاء فايروس نيوكاسل الضاري ذو معيار $0.1/10^7 \text{EID}_{50}$ مل مقدار 0.5 مل بالتقطير بالمنخرين والعين والفم لكل طير ولكل المجاميع بعمر 35 يوما وبواقع 20 فرخه لكل مجموعة وتم ملاحظة العلامات السريرية، التغيرات المرضية، نسبة الإصابة، نسبة الهلاكات وإجراء الصفة التشريحية للطيور الهالكة على مدى أسبوعين بعد إعطاء الفايروس.

النتائج

بينت النتائج إن نسبة الفقس في المجموعة الأولى (تلقيح الأجنة) بلغت 85% في حين نسبة فقس المجموعة الرابعة (مجموعة السيطرة) كانت 91.6% ويلاحظ عدم وجود فرق معنوي بين المجموعتين كما هو موضح بالجدول (1)، أما نتائج حيوية الأفراس أظهرت المجموعة الأولى هلاكات مقدارها ثلاثة طيور في حين أظهرت المجموعة الرابعة هلاك واحد في حين لم تظهر المجموعة الثانية (التلقيح بماء الشرب+الرش) والمجموعة الثالثة (اللقاح الزيتي+الرش) والمجموعة

جدول (1) يوضح تأثير اللقاح على نسبة فقس الأجنة عند تلقيحها بعمر 18 يوما.

المجاميع	نوع اللقاح	الجرعة	عدد الأجنة الفاقسة	نسبة الفقس
المجموعة الأولى	لقاح نيوكاسل عترة B1 التركيبية	$0.1/10^{7.2} \text{EID}_{50}$ مل	50/60	85% ^a
المجموعة الثانية	بدون لقاح فقط محلول دارئ الفوسفات	0.1 مل	55/60	91.6% ^a

^a = مثل عدم وجود فرق معنوي بين نسبة فقس المجاميع.

جدول (2) يوضح حيوية الأفراخ خلال الأسبوع الأول من الفقس.

النسبة المئوية	عدد الأفراخ الكلي/عدد الأفراخ الهالكة	المجاميع
94%	3/50	المجموعة الأولى
100%	0/50	المجموعة الثانية
100%	0/50	المجموعة الثالثة
98%	1/50	المجموعة الرابعة

جدول (3) يوضح نتائج اختبار اثباط التلازن الدموي (المعدل±الخطأ القياسي).

المجاميع	الاختبار الأول بعمر يوم واحد	الاختبار الثاني بعمر 7 أيام	الاختبار الثالث بعمر 14	الاختبار الرابع بعمر 28 يوما
مجموعة (1) الحقن بالأجنة	A 55.20±8.33	Bb 39.20±4.42	ABbc 26.20±3.69	Bb 7.80±2.21
مجموعة (2) ماء الشرب	A 38.40±6.82	ABab 54.80±7.14	Aab 38.80±4.07	ABb 9.70±2.03
مجموعة (3) الزيتي	A 38.40±6.40	Aa 72.00±8.00	Aa 43.60±4.48	Aa 28.6±7.71
مجموعة (4) السيطرة	A 46.40±7.05	ABb 44.80±3.60	Bc 17.00±3.89	Bb 8.40±1.58

- لحروف الإنكليزية الصغيرة والكبيرة تشير إلى وجود اختلافات معنوية للفحص الواحد (العمود الواحد) على مستوى (5% و 1%) على التوالي.
- عدد النماذج بالاختبار الأول 20 نموذج لكل مجموعة اما عدد النماذج بالاختبار الثاني كانت 15 نموذج لكل مجموعة ماعدا المجموعة الثالثة 20 نموذج.

جدول (4) نتائج أقيام الكثافة الضوئية في اختبار الاليزا لفايروس مرض نيوكاسل (المعدل±الخطأ القياسي).

الاختبارات	الاختبار الأول بعمر يوم واحد	الاختبار الثاني بعمر 7 أيام	الاختبار الثالث بعمر 14 يوم	الاختبار الرابع بعمر 28 يوم
المعدل العام	0.8566±0.0411	0.5447±0.0572	0.3360±0.0302	0.2018±0.0448
المجموعة الأولى (الحقن بالأجنة)	0.8566±0.411	0.6357±0.0429	0.3483±0.0266	0.1424±0.0778
المجموعة الثانية (ماء الشرب)	0.8860±0.0149	0.4786±0.0365	0.3617±0.0185	0.1828±0.0182
المجموعة الثالثة (الزيتي)	0.835±0.0346	0.5234±0.0389	0.3137±0.0200	0.2920±0.0495
المجموعة الرابعة (السيطرة)	0.8462±0.0289	0.5411±0.431	0.3203±0.0194	0.1699±0.0214

*الحروف الإنكليزية الصغيرة والكبيرة تشير إلى وجود اختلافات معنوية للفحص الواحد (العمود الواحد) على مستوى (5% و 1%) على التوالي.

جدول (5) يوضح اختبار التحدي بعمر 35 يوما.

المجاميع	العدد الكلي	نسبة الأ
المجموعة الأولى	6/20	70%
المجموعة الثانية	6/20	70%
المجموعة الثالثة	2/20	90%
المجموعة الرابعة	18/20	10%

المناقشة:

تطابق نتائجه مع نتائج اختبار آل HI من ناحية النتائج السلبية والايجابية وهذا يتفق مع مذكره الباحث (18). إن اختبار الاليزا أكثر ملائمة من اختبار آل HI لأنه شبه الي ويعطي نتائج سريعة، وفي هذا الاختبار نلاحظ تفوق المجموعة الثالثة على المجاميع الأربع وبخاصة قبل اختبار التحدي بعمر 35 يوما وهذا مطابق لنتائج اختبار آل HI ومطابق لما ذكره الباحث (17)، أما نتائج اختبار التحدي والمتمثلة بنسبة الهلاكات فقد اختلفت إلى مجاميع التجربة الأربع حسب الحالة المناعية وطرق التلقيح والبرامج التلقيحية لتلك المجموعة (18) حيث أعطت مجموعة السيطرة غير الملقحة نسبة هلاكات وصلت إلى 90% وتتفق هذه مع المستوى المناعي الاختباري ال HI والاليزا بينما أعطت المجموعة الثالثة اقل نسبة هلاكات وهذا متفق مع ما اشار إليه الباحثون (19) من أن المناعة المتولدة من اللقاح الزيتي تكون بطيئة في تكوينها ولكنها عالية المعيار وتمتد لمدة طويلة تظهر بعد 14-18 يوما من التلقيح وتمتد إلى 13-14.

المصادر:

1. Alexander, D.J. (2008). Newcastle and other avian paramyxoviridae and pheumovirus infections. In: Disease of poultry. Saif Y.M; Barnes H.J.; Glisson J.R.; Fadly A.M; Mcdongald L.R. and Swayne D., editors. Ames, Iowa State University Press; pp: 63-99.
2. Allan, W.H.; Lancaster, J.E. and Toth, B. (1978). "Newcastle disease vaccines their production and use" food and agriculture organization of the united nation, Rome.
3. Jacob, J.P.; Batcher, G.D. and Matter, F.B. (2001). Vaccination of small poultry flocks. Institute of food and agriculture sciences, university of florida, Gainesville, 32611.
4. Ahmed, J.P. and Sharma, J.M. (2004). Evaluation of a modified-live virus vaccine administrated in ovo to protect chicken against Newcastle disease. Am. J. Vet. Res., 53:1999-2004.

5. زاهد، عبد الأمير والشمري، صبيحة عبد علي (2009). تلقيح أجنة الدجاج ضد مرض نيوكاسل باستخدام اللقاح المبطل الزيتي المحضّر محليا في

أظهرت النتائج أن طريقة تلقيح الأجنة بلقاح نيوكاسل عترة B1 التركية وبجرعة $EID_{50} 10^{7.2}$ في سائل الامنيون لم تؤثر معنويا على نسبة الفقس مقارنة بمجموعة السيطرة وهذا يتفق مع مذكرته الباحثة (11) في عدم وجود تأثير معنوي على نسبة الفقس حين حقن لقاح نيوكاسل عترة B1 التركية في كيس الامنيون لجنين الأفراخ التجارية من أمهات ممنعة وهذا يعود إلى كون الأجنة من أمهات ممنعة ضد مرض نيوكاسل من أصول تجارية (12).

أما نتائج تقويم حيوية الأفراخ بعد الفقس فقد أظهرت النتائج إن أفراخ المجموعة الملقحة بالاجنة ظهر عليها علامات تنفسية بسيطة زالت هذه العلامات بعد أربعة أيام من الفقس وهلاك ثلاثة أفراخ وعند إجراء الصفة التشريحية على الأفراخ الهالكة لم تظهر علامات رد فعل اللقاح وهذا يشير إلى عدم تأثر الأفراخ سلبيا باللقاح ومتفق مع مذكرته الباحثة (11) ويؤكد سلامة وامن اللقاح أما العلامات التنفسية تؤكد ميكانيكية عمل اللقاح الذي يأخذه الجنين عن طريق الاستنشاق وعن طريق البلع والذي يؤدي إلى تحطم الخلايا المهديّة للقصبية الهوائية التي لا تلبث أن تسترجع بنائها خلال مدة قصيرة وتخفي العلامات التنفسية (9، 11).

أما بالنسبة لنتائج معيار الأضداد المثبّطة لتلازن الدم للمجاميع الأربع حيث كانت النتائج بعمر يوم واحد ذي مستوى عالي وقد لوحظ عدم وجود أي اختلاف معنوي بين المجاميع الأربع وهذا يرجع إلى كون المناعة الامومية ذات مستوى عالي والتي تنتقل عن طريق صفار البيض إلى الجنين والتي تعتمد على الحالة المناعية للام (13)، أما بعمر أسبوع نلاحظ تفوق المجموعة الثالثة على بقية المجاميع وهذا قد يعود إلى طريقة التلقيح بالرش حيث يعطي مستوى عاليا من الأضداد المثبّطة لتلازن الدم (14) وهذه الطريقة للتلقيح اقل تأثرا بالمناعة الامومية ويمكن التحسس بالأضداد خلال 7 أيام أما بالنسبة للمجموعتين الأولى والرابعة والزيادة تعود إلى أن المناعة الامومية تستمر من (4-6) أيام بعد الفقس وتتكون الأضداد كافية لحماية الأفراخ من الإصابة (14) اوالى تطور الجهاز المناعي خلال هذا العمر، أما بعمر أسبوعين لوحظ تفوق المجموعة الثانية والثالثة على المجموعتين الأولى والرابعة وهذا يعود إلى تأثير اللقاح بالرش على المستوى المناعية للمجموعتين الثانية والثالثة (15) بينما تبدأ المناعة الامومية بالهبوط بتقدم العمر إذ تبدأ بالتناقص بانتظام بحدود 1log كل 4-5 يوم (16)، أما بعمر أربعة أسابيع نلاحظ تفوق للمجموعة الثالثة معنويا على بقية المجاميع وهذا مطابق لما ذكره الباحث (17)، إن التلقيح لأوقات متباعدة يقلل من فرص انخفاض معيار الأضداد يصل إلى أعلى قيمة له بعد 9-14 يوما بعد التلقيح ويبدأ بالانخفاض بعد 15-17 يوما من التلقيح، أما بالنسبة لاختبار الاليزا الذي يكون حساسا في قياس الكلوبولين المناعي (IgG) فنلاحظ

13. Gharaibeh, S.; Mahmoud, K. and Al-Natour, M. (2008). Immunology, Health and disease field Evaluation of maternal antibody transfer to a group of pathogens in meat-type chickens. *Poult. Sci.* 87:1550-1555.
14. Alexander, D.J. (1997). Newcastle and other avian paramyxoviridae infections In: *Disease of poultry* Eds. By Calnek, B.W.; Barnes, H.J.; Beard, C.W.; Mcdonald, L.R. and Saif, Y.M. 10 th ed. Iowa state university press, Ames, Iowa U.S.A. pp. 541-569.
15. Miringa, E.N. (1986). Vaccination of chicks infected with Newcastle disease by spray method in tropical countries. *Indian J. Ani. Sci.*; 56: 1123-1126.
16. Koch, G.; Czifra, G.; Engestram, B.E. (1998). Detection of Newcastle disease virus - specific antibodies in ostrich sera by three serological methods. *Vet. Rec.*; 143: 10-12.
17. Stone, H.D. (1985). Determination of hem agglutination activity recovered from oil- emulsion Newcastle disease vaccines as a prediction of efficiency. *Avian dis.*, 29: 721-728.
18. Alexander, D.J. (1998). Newcastle disease virus and other paramyxo virus. In: *Isolation and identification of avian pathogens* Eds. By Swayane, D.E.; Glisson, J.R.; Jackwood, M.W.; Pearson, J.E. and Reed, W.M. Eds. 4th ed American association Avian pathologists. U.S.A. PP: 156-163.
19. زاهد. عبد الأمير حسين، منهل، يوسف بني (2002). تقييم طريقة التلقيح باللقاح المبطل الزيتي في أفراخ اللحم، مجلة الطب البيطري، العدد 2 المجلد 12.
- العراق. وقائع المؤتمر التاسع/كلية الطب البيطري/جامعة بغداد/ العدد الأول.
6. Reed, L.J. and Munch, H. (1938). A simple method of estimating fifty percent and points. *Am. J. Hyg.*; 27:493-497.
7. زاهد، عبد الأمير حسين (1999). تقييم برنامجين مختلفين للتلقيح ضد مرض نيوكاسل في أفراخ النياض في العراق. مجلة الطب البيطري 51:58-90.
8. خطاب، نزار عبد الله، أثير كامل كساب وصباح الطائي (1992). إدارة الدواجن، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. مديرية دار الكتب للطباعة والنشر/ جامعة الموصل.
9. Hanso, R.P. (1980). Newcastle disease. In: *isolation and identification of avian pathogen* "Hitchner, S.B.; Domermu, H.C.; Purchase, H.G. and William, J.E. Eds. 2nd ed. American association of avian pathologists USA. PP, 36-66.
10. جعفر، نوال صالح (2002). دراسة في تطبيق طريقة تلقيح ضد مرض نيوكاسل وكمبورو في أجنة الدجاج. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري- جامعة بغداد.
11. El-Zein (1984). The diagnosis and vaccination against the prevalent strains of Newcastle disease in the near east. A paper prepared for the FAO poultry disease conference. Amman (cited by Challob, 1985).
12. Ebrahim, M.; Moghaddam pour, M.; Tavassoli, A. and Shahsavandi, S. (2000). Vaccination of chicks with experimental Newcastle disease and avian influenza oil-emulsion vaccines by in ovo inoculation, Razi vaccine and Serum Research Institute, P.D. Box 11365-1558 ed., Pp:634-698.