

## الكشف عن بعض جوانب الاستجابة النسجية للقاحين الحي المحقون والمقتول لمرض النيوكاسل (عترة لاسوتا) في فروج اللحم

أيمن عبد الله علي الحيايالي \* علاء عبد الأحد شمعون \*

\* فرع الأمراض وأمراض الدواجن، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق.

Corresponding Author: aymenavidis@gmail.com

### الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية التعرف على الاستجابة النسجية للأعضاء اللمفية (جراب فايبريشيا والطحال والتوتة) من خلال حقن اللقاح الحي المضعف واللقاح المقتول لمرض النيوكاسل عترة (لاسوتا) بأعمار مختلفة. استخدمت في هذه الدراسة (8) مجاميع أفراخ فروج لحم عرق ٣٠٨ Ross. المجاميع الخمسة الأولى أخضعت كل مجموعة إلى برنامج لقاحي، أما الثلاثة الباقية فكانت مجاميع سيطرة. حيث أن المجموعة الأولى أعطيت لقاح نيوكاسل عترة (لاسوتا) عن طريق ماء الشرب بعمر ١١ يوم والمجموعة الثانية أعطيت لقاح نيوكاسل حي عترة (لاسوتا) عن طريق الحقن تحت الجلد الممزوج مع المساعد (Adjuvant) بعمر ١١ يوم والمجموعة الثالثة أعطيت لقاح نيوكاسل مبطل عترة (لاسوتا) عن طريق الحقن تحت الجلد بعمر ١١ يوم والمجموعة الرابعة أعطيت لقاح نيوكاسل حي عن طريق الحقن ولقاح نيوكاسل مبطل عن طريق الحقن كلاهما من عترة (لاسوتا) بعمر ١١ يوم والمجموعة الخامسة تمثلت بإعطاء لقاح نيوكاسل حي عن طريق ماء الشرب ولقاح نيوكاسل مبطل عن طريق الحقن كلاهما من عترة (لاسوتا) بعمر ١١ يوم أما المجاميع الثلاثة الباقية فكانت مجاميع سيطرة مكونة من المجموعة السادسة (سيطرة بدون معاملة) والمجموعة السابعة (الملح الفسيولوجي N.S. عن طريق الحقن) والمجموعة الثامنة (الملح الفسيولوجي N.S. عن طريق الماء) بعمر ١١. أظهرت النتائج عدم وجود أي علامات سريرية مميزة وافات عيانية مميزة لأفراخ الفروج اللحم للمجاميع الملقحة طوال مدة التجربة. أما الفحص المرضي النسجي فقد أظهر وجود بعض التغيرات النسجية بزيادة ملحوظة في عدد الجريبات اللمفاوية وزيادة في حجم المراكز الانتاشية مع تكاثر الخلايا اللمفاوية في متن الطحال، زيادة كبيرة في عدد الخلايا اللمفاوية في جريبات غدة فايبريشيا قلة في سمك قشرة الجريبات اللمفاوية من القشرة واللب فيما أظهرت التوتة تغيرات نسجية زيادة كبيرة في عدد الخلايا اللمفاوية للقشرة واللب مع زيادة في عدد جسيمات هسل في منطقة اللب، كذلك لوحظ زيادة التجمعات اللمفاوية في اللوز الأوروية.

### المقدمة

مرض النيوكاسل من الأمراض الفيروسية الخطيرة التي تصيب الدواجن ويمتاز بالعلامات التنفسية والعصبية (1). هذا فضلا عن ما يسببه من خسائر اقتصادية في قطاع الدجاج حيث سجلت نسبة إصابات عالية بالنيوكاسل (2,3). إنَّ لعملية التلقيح دورا متعارفا عليه في صناعة الدواجن وذلك من أجل التقليل من شدة

الإعراض السريرية التي تحدث من العتر الضارية لمرض النيوكاسل (ND) والتي تمنع الإصابة وطرح الفيروس وكل ذلك يحدث تحت إدارة ناجحة وامن حيوي تتطلبها حقول الدواجن ويوجد نوعان من اللقاحات ضد مرض النيوكاسل وهما اللقاح الحي المضعف واللقاح المقتول كما أنّ طرق الإعطاء متعددة إما عن طريق ماء الشرب أو بالرش أو بالتقطير في العين، هذا من حيث اللقاح المضعف الحي والحقن في العضل في اللقاح الميت (4) وقد استخدم الباحثون (5) اللقاح الحي المضعف عن طريق الحقن و ممزوجا مع اللقاح الميت في فروج اللحم للحصول على حماية واستجابة مناعية عالية. يسبب فيروس مرض النيوكاسل الضاري المحب للأحشاء آفات نزفيه في القناة المعوية تشمل المعدة الحقيقية والأمعاء الدقيقة والأعورين ويكون هذا النزف ناتجا عن النخر في جدار الأمعاء والنسيج اللمفاوي المتمثل في اللوز الأعورية ولطخات باير (2) وتتركز الآفات النزفية والنخرية في جدار الأمعاء في النصف الخلفي للأثني عشري وفي ألفانفي والصائم بينما يكون النزف في المعدة الحقيقية على السطح ألغدي ويتفاوت هذا النزف بين النزف ألكدمي والنزف ألحبري (6). ومن التغيرات النسجية في الأعضاء اللمفاوية وجود فرط التنسج للخلايا البلعمية احادية النواة المعروفة في معظم الأعضاء خصوصا الكبد والتي تحدث في الشكل تحت الحاد كذلك تجمع بؤري مع تحطم الخلايا اللمفية و يمكن ملاحظته في مناطق القشرة والمراكز الانتاشية للطحال والتوتة مع وجود تغير الى نخر شديد واضح للخلايا البلعمية في منطقة اللب لجراب فايبريشيا (7). ويلاحظ في القناة المعوية نخرا ونزفا في الخلايا اللمفية في الطبقة المخاطية ويمكن ملاحظتها في القناة المعوية في حالات الإصابة ببعض العتر الضارية لمرض النيوكاسل (8) هذا فضلا عن احتقان الأوعية الدموية (9)، كذلك يلاحظ تكفّف حول الوعاء الدموي وتنكسا فجويا في خلايا الجهاز العصبي المركزي (10). لذلك كان الهدف إجراء دراسة الحالية للتغيرات النسجية للأعضاء المناعية ودراسة التغيرات المرضية العيانية والنسجية لأختبار فيروس التحدي.

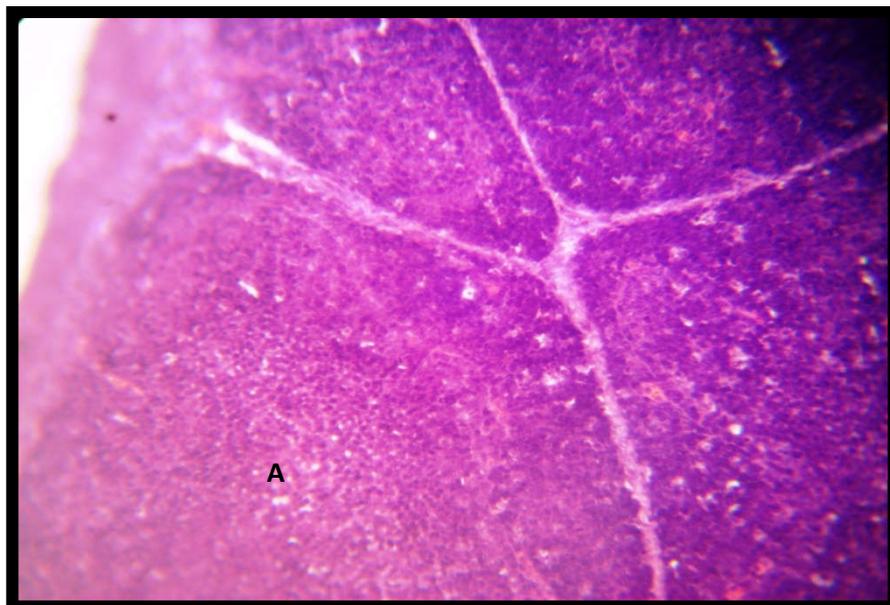
### المواد وطرائق العمل

استخدم في هذه الدراسة (310) فروج لحم وبعمر يوم واحد قسمت الى 8 مجاميع، المجاميع الخمسة الأولى أخضعت كل مجموعة إلى برنامج لقاحي مختلف، أما الثلاثة الباقية فكانت مجاميع سيطرة، المجموعة الأولى أعطيت لقاح نيوكاسل عترة (لاسوتا) عن طريق ماء الشرب بعمر 11 يوم والمجموعة الثانية أعطيت لقاح نيوكاسل حي عترة (لاسوتا) عن طريق الحقن تحت الجلد الممزوج مع المساعد (Adjuvant) بعمر 11 يوم والمجموعة الثالثة أعطيت لقاح نيوكاسل مبطل عترة (لاسوتا) عن طريق الحقن تحت الجلد بعمر 11 يوم والمجموعة الرابعة أعطيت لقاح نيوكاسل حي عن طريق الحقن ولقاح نيوكاسل مبطل عن طريق الحقن كلاهما من عترة (لاسوتا) بعمر 11 يوم والمجموعة الخامسة تمثلت بإعطاء لقاح نيوكاسل حي عن طريق ماء الشرب ولقاح نيوكاسل مبطل عن طريق الحقن كلاهما من عترة (لاسوتا) من شركة سيفا لإنتاج اللقاحات البيطرية بعمر 11 يوم أما المجاميع الثلاثة الباقية فكانت مجاميع سيطرة مكونة من المجموعة السادسة (سيطرة بدون معاملة) والمجموعة السابعة (N.S. عن طريق الحقن) والمجموعة الثامنة (N.S. عن طريق الماء) بعمر 11 يوم. تم استخدام لقاح حي مضعف ومبطل ضد مرض النيوكاسل عترة لاسوتا. أجريت الصفة التشريحية للأفراخ المقتولة في الأيام 18 و28 و35 بعد قتل 10 أفراخ لملاحظة التغيرات الحاصلة عند إعطاء برامج اللقاحات المختلفة حسب المجاميع الملقحة. تم خلال التجربة مراقبة الأفراخ سريريا وتسجيل العلامات السريرية بعد

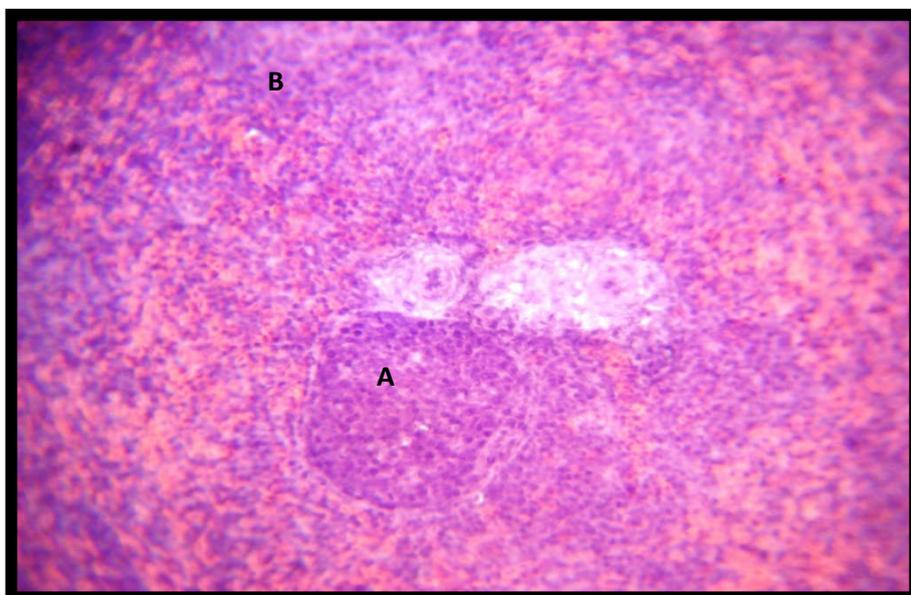
التلقيح وتسجيل الهلاكات خلال فترة التجربة لكل المجاميع وتم ملاحظة التغيرات المرضية العيانية للأعضاء (جرب فايبريشيا والتوتة والطحال و اللوز الأعورية) وسجلت التغيرات المرضية العيانية لهذه الأعضاء. أخذت نماذج من الأعضاء جراب فايبريشيا و التوتة والطحال و اللوز الأعورية من كل مجموعة بعد قتلها في الأيام ٨ و ١٨ و ٢٨ و ٣٥ و وضعت أجزاء من الأعضاء المدروسة في عبوة بلاستيكية حاوية على محلول الفورمالين الدارى المتعادل ١٠ %، بعد ذلك حضّرت شرائح نسجية بسمك (٤) مايكرون باستخدام جهاز المشراح و صبغت الشرائح بصبغة الهيماتوكسلين والأوسين (11,12).

### النتائج

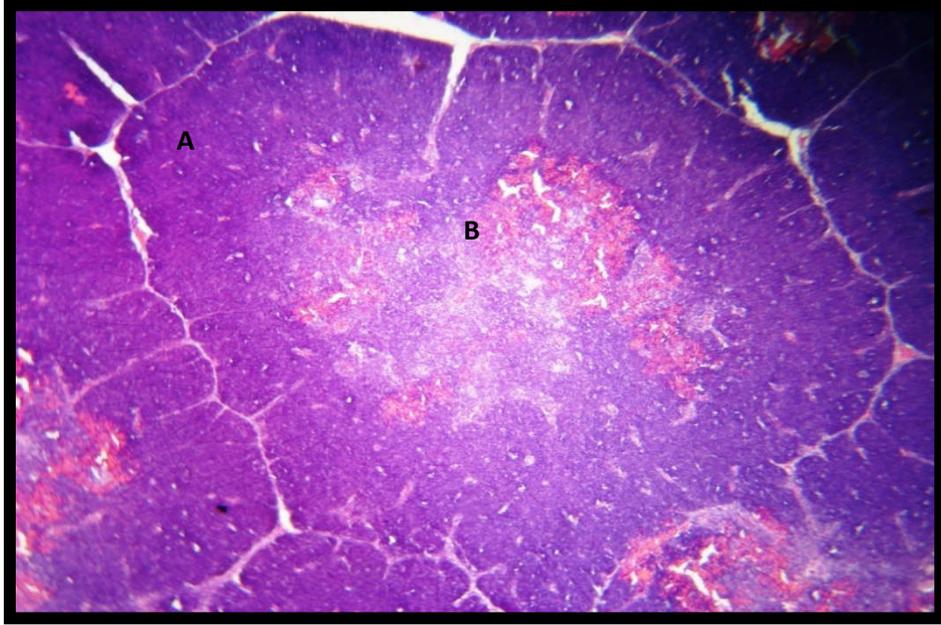
اظهر الفحص المرضي النسجي وجود تغيرات نسجية طفيفة في الأعضاء المناعية لأفراخ فروج اللحم متمثلة بالطحال وجراب فايبريشيا والتوتة و اللوز الاعورية عند المجاميع الملقحة كافة في ١٨ يوماً تفاوتت في الشدة بين أفراد هذه المجاميع . تمثلت هذه التغيرات استنزاف الخلايا للمفاوية في فصوص جراب فايبريشيا وكانت أكثر شدة عند المجموعة الأولى وطفيفة عند باقي المجاميع الشكل (١). ولوحظ زيادة ملحوظة في عدد الجريبات للمفاوية وزيادة في نشاط المراكز الانتاشية مع تكاثر الخلايا للمفاوية في متن الطحال في عمر ٢٨ يوماً وكانت أكثر شدة عند المجموعة الثانية و اقل شدة عند باقي المجاميع الشكل (٢) وأيضا لم يظهر الفحص المرضي للتوتة أي تغيرات مرضية مميزة عند اليوم الثامن عشر للتجربة . وكما وجد أيضا قلة في سمك قشرة الجريبات للمفاوية من القشرة واللحلب لمجموعة السيطرة غير المعاملة وكانت اقل شدة عند المجاميع الأخرى. نتخن في سمك قشرة التوتة بأربع مرات قياسا باللحلب هذا فضلا عن زيادة كبيرة في جسيمات هسل الشكل (٣) ولم يظهر الفحص النسجي للطحال أي تغيرات نسجية مميزة عند اليوم الثامن والعشرين من التجربة لجميع المجاميع . ووجد أيضا عند اليوم الخامس والثلاثين من التجربة استنزاف الخلايا للمفاوية في بعض الجريبات للمجموعة الثامنة، كذلك لوحظ ضمور القشرة في بعض الجريبات للمفاوية مع استنزاف طفيف للخلايا للمفاوية في جميع الجريبات وكانت اقل شدة عند باقي المجاميع الأخرى . وأما التوتة فقد أظهرت نتائج الفحص النسجي زيادة كبيرة في عدد الخلايا للمفاوية للقشرة واللحلب مع زيادة في عدد جسيمات هسل في منطقة اللحلب للمجموعة الثالثة الشكل (٤) وكانت التغيرات المرضية النسجية اقل شدة عند باقي المجاميع. واطهر الفحص النسجي المرضي للأعضاء المناعية في التوتة زيادة كبيرة في جسيمات هسل للمجموعة الثانية عن باقي المجاميع الأخرى مما أظهرته التغيرات المرضية النسجية للطحال يوجد زيادة في خلوية الجريبات للمفاوية Hypercellularity مع مراكزها الانتاشية للمجموعة السادسة الشكل (٥). كما أظهرت التغيرات المرضية النسجية لجراب فايبريشيا باختفاء القشرة في الجريبات للمفاوية مع استنزاف depletion الخلايا للمفاوية للمجموعة الخامسة الشكل (٦)



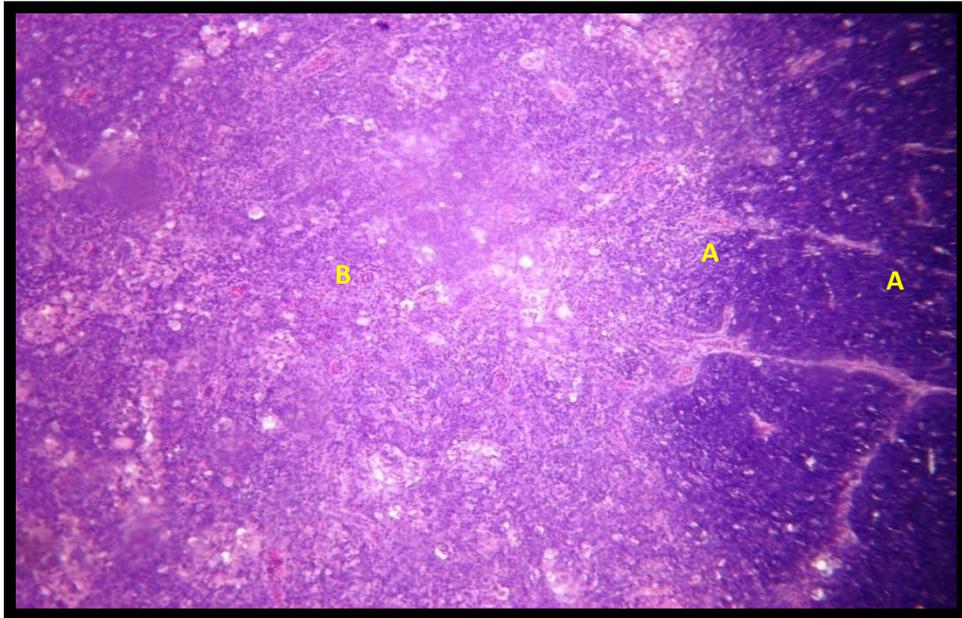
الشكل (1) مقطع نسجي لجراب فايبريشيا لفرخ فروج اللحم بعمر ١٨ يوماً من المجموعة الأولى (لقاح نيوكاسل حي مضعف عنتره لاسوتا عن طريق ماء الشرب يلاحظ استنزاف الخلايا للمفاوية (A). صبغة H &E قوة التكبير X٩٠



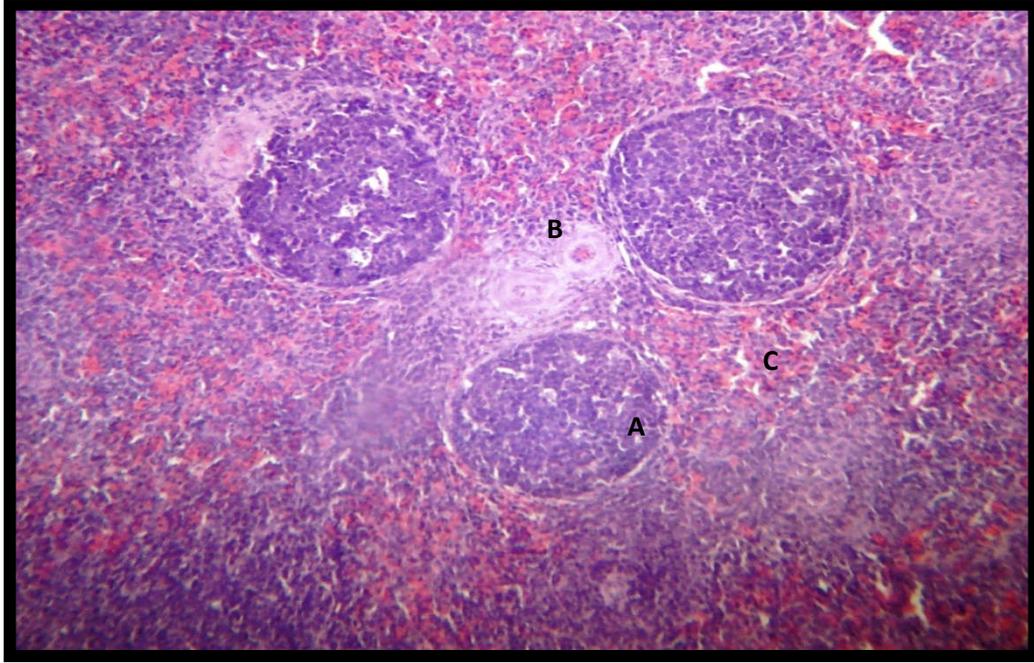
الشكل (٢) مقطع نسجي لطحال فرخ فروج لحم بعمر ١٨ يوماً من المجموعة الثانية (لقاح نيوكاسل حي مضعف ممزوج مع المساعده عنتره لاسوتا عن طريق الحقن) يلاحظ زيادة في حجم المراكز الانتاشية (A) وزيادة في الخلايا للمفاوية (B). صبغة H &E قوة التكبير X٣٧٠



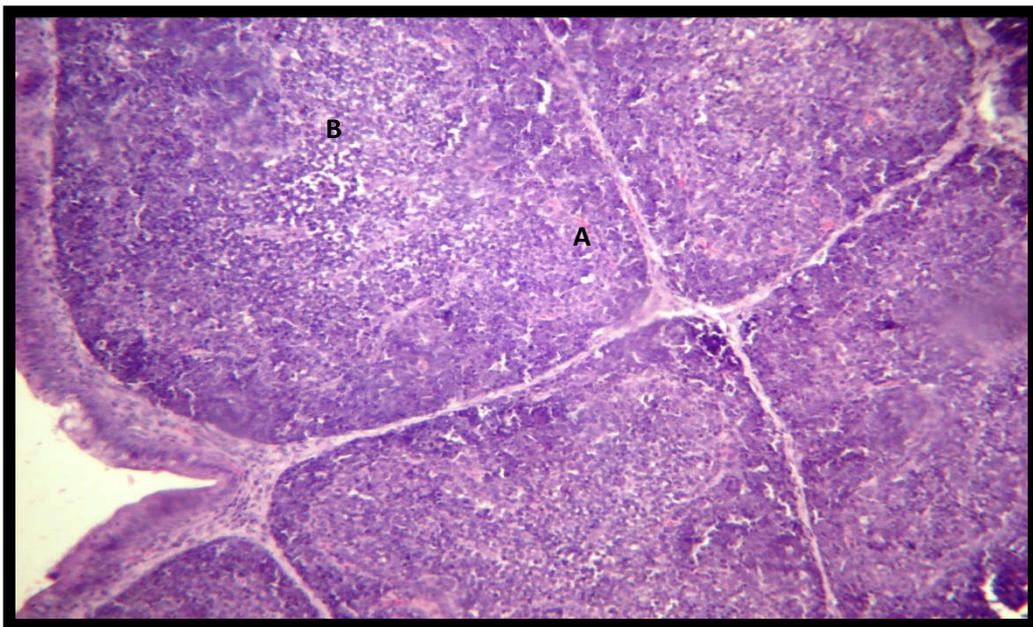
الشكل (٣) مقطع نسجي لطية التوتة لفرخ فروج اللحم بعمر ٢٨ يوماً من المجموعة الثانية (لقاح نيوكاسل حي مضعف عنرة لاسوتا ممزوج مع المساعد عن طريق الحقن) تنخن القشرة قياساً باللب (A) مع وجود الاحتقان في اللب (B). صبغة H & E قوة التكبير X١١٥



**الشكل (٤)** مقطع نسجي لتوتة لفرخ فروج اللحم بعمر ٣٥ يوماً من المجموعة الثالثة (لقاح نيوكاسل مقتول عترة لاسوتا عن طريق الحقن) يلاحظ زيادة سمك للقشرة واللب (A) مع زيادة في عدد جسيمات هسل في منطقة اللب (B). صبغة H & E قوة التكبير X١٤٥



**الشكل (٥)** مقطع نسجي لطحال لفرخ فروج اللحم بعد اليوم الخامس من التحدي من المجموعة السادسة (سيطرة بدون معاملة) حيث يلاحظ زيادة في خلوية الجريبات اللمفاوية (Hypercellularity) (A) مع نشاط في مراكزها الانتاشية (B) مع وجود النزف (C). صبغة H & E قوة التكبير X١٤٥



**الشكل (٦)** مقطع نسجي لجراب فايبريشيا لفرخ فروج اللحم بعد اليوم الخامس من التحدي من المجموعة الخامسة (لقاح نيوكاسل حي مضعف عترة لاسوتا عن طريق ماء الشرب ولقاح نيوكاسل مقتول عترة لاسوتا عن طريق الحقن) يلاحظ فيه اختفاء القشرة في الجريبات (A) مع استنزاف قليل للخلايا للمفاوية (B). صبغة H & E قوة التكبير X180

### المناقشة

اظهرت نتائج الدراسة الحالية حدوث استنزاف الخلايا للمفاوية وارتشاح الخلايا الالتهابية في جراب فايبريشيا في معظم المجاميع واكلها في المجموعتين الثانية والرابعة مع قلة سمك قشرة الجريبات للمفاوية وتنكس وتنخر في نسيج متن الجريب للمفاوي كل ذلك جاء متفقاً مع الباحثين (10,13) كذلك ما وجد من استنزاف الخلايا للمفاوية وتنخر وتنكس ونزف في الطحال يتفق مع الباحثين (14) ومما يتفق مع الباحث (13) من زيادة استنزاف الخلايا للمفاوية مع تكاثر عدد العقيدات للمفاوية ومراكزها الانتاشية الناجمة عن الإصابة بمرض النيوكاسل (الشكل المعوي). وهذا ما أظهرته المجموعتان الثانية والرابعة من مقاومة مناعية تجاه فيروس التحدي للمستوى المناعي العالي بالمقارنة مع باقي المجاميع خصوصاً مجاميع السيطرة التي يجعلها عرضة للإصابة بمرض النيوكاسل بصورة سريعة وتزيد من شدة التغيرات المرضية السريرية والعيانية والآفات النسجية (9). ولكون استخدامنا للتحصير المساعد بل incomplete freunds adjuvant الذي ينشط من ACP ويساعد على تجميع الخلايا للمفاوية في الطحال وجراب فايبريشيا والتوتة وان الخلايا للمفاوية من CD4+,CD8+ والمرتبطة بالأجسام المضادة للقاح فإن هذه التجمعات الخلايا للمفاوية استجابة النسيج للمفاوي عن اللقاحات خصوصاً اللقاح الحي المحقون تؤدي الى فاعلية الاستجابة المناعية (15). وهذا ماتم ملاحظته من تأثير اللقاح للمجموعتين الثانية والرابعة المعاملة باللقاح الحي المحقون فإن الاستجابة المناعية للأعضاء للمفاوية الواقعة تحت تأثير الخلايا التائية cytotoxic T-Lymphocyte المتخصصة ضد مرض النيوكاسل التي تتواجد في الطحال خصوصاً في الدواجن الملقحة وان الخلايا التائية بأعدادها مع البلعمات تنتج أعداد كبيرة من السايوتوكينات مع نشاط ضد الفيروسات الممرضة (16).

إن هذه السايوتوكينات تنشط الخلايا للمفاوية البائية وعلى أثرها تزداد وتتمايز داخل الأجسام المضادة مكونة خلايا مسؤولة عن الاستجابة المناعية والتصدي ضد فيروس مرض النيوكاسل (17). إن التلقيح ضد مرض النيوكاسل باستخدام عترة لاسوتا بالبرامج اللقاحية في التجربة سبب تغييرات نسجية تعزى إلى زيادة في الخلايا البلازمية والبلعمات والخلايا للمفوية المتعددة في مركز الأعضاء للمفوية (جراب فايبريشيا، التوتة) تبدو جلية في التلقيحة الأولى (16) وهذا ما بدا لنا في التغيرات النسجية للمجموعتين الثانية والرابعة في اليوم الثامن عشر من التجربة واكلها في المجاميع الأخرى للمقارنة مع مجاميع السيطرة، إضافة إلى الاستجابة المناعية الطبيعية المتمثلة بإنتاج الأجسام المضادة وتنشيط وجود السايوتوكينات وإن هذه السايوتوكينات لها دور كبير في تنظيم الاستجابة المناعية من تحفيز IL-4,IL-5 لتنشط الخلايا البائية وإنتاج الأجسام المضادة، وأيضاً تحفز السايوتوكينات المناعة الخلوية من خلال الانترفيرون كما IFN-γ التي بدورها تنشط البلعمات وتحطم المسببات المرضية (15,18) ومن السايوتوكينات المهمة الانترلوكينات وعامل الورم النخري IL-2, TNF-α التي بدورها تشجع على تكاثر الخلايا البائية وNK ذات التأثير القوي في التغيرات في

الأنسجة اللمفاوية وفي الاستجابة المناعية التي ظهرت لدينا في التغيرات النسجية بعمر ٢٨ و ٣٥ يوماً من عمر التجربة وهذا يتوافق مع (9,15). إن حدوث زيادة في جسيمات هسل في التوتة للمجموعة الرابعة الملقحة باللقاحين الحي والمبطل عن طريق الحقن بعمر ٣٥ يوماً والمتواجدة في متن التوتة على شكل تجمعات من عدة طبقات من الخلايا تعزى إلى ماتقوم به تلك التجمعات من جسيمات هسل من دور فاعل في تكوين وتنظيم الخلايا التائية خلال إنتاج cytokine thymic stromal lymphopoitein والتي بالتالي تنشط الخلايا التوتية التي تؤدي إلى زيادة في إنشاء خلايا تائية جديدة (19). وأما من حيث الزيادة الكبيرة لجسيمات هسل فقد يعزى ذلك أما إلى كون جسيمات هسل تزداد بصورة طبيعية مع التقدم في عمر الكائن الحي التي تعطي أثراً في نمو التوتة كذلك ولها دور في إزالة المسبب المرضي بواسطة تنشيط المتمم الذي يجعل من جسيمات هسل منشطاً عالياً في توليد الخلايا التائية والخلايا الشجرية واستدعاء الخلايا البلعمية لمواجهة العامل المسبب (20) ولكون المجموعة التائية الملاحظ عليها الزيادة في جسيمات هسل يوضح لدينا استجابة جسيمات هسل ضد فيروس التحدي عن باقي المجاميع الأخرى ويؤكد لدينا الاستجابة المناعية للمجموعة التي أعطيت اللقاح الحي المضعف عن طريق الحقن في اليوم ١٨, ٢٨ من عمر التجربة .

## **DETECTION OF SOME HISTOLOGICAL ASPECTS FOR LIVE ATTENUATED INJECTION AND KILLED NEWCASTLE DISEASE VACCINES (LASOTA STRAIN) IN BROILER CHICKS**

Ayman Abdulla Ali Al-Hialli\*Alaa Abdel Ahad Shamaun\*

\* Department of Pathology and Poultry Diseases, College of veterinary medicine, University of Mosul, Mosul , Iraq.

### **ABSTRACT**

The aim of this study was to determined the Histopathological changes in deferent organs (bursa of fabricia, thymus, spleen and cecal tonsil) and determined of effective organs in challenge test in different ages in broilers breeder Ross 308 by live attenuated with adjuvant and killed vaccines (LaSota strain). In this study used eight groups of broiler, first five groups vaccinated with different vaccination program, another three groups as control Group (one) include first vaccination by drinking water (D.W.) at 11 days age strain LaSota, second vaccination by (D.W.) at 10 days after first vaccination. Group (two) first vaccination by subcutaneous (S/C) of live attenuated vaccine with adjuvant at 11 days age strain LaSota, second vaccination by (D.W.) at 11 days after first vaccination. Group (three) first vaccination by (S/C) of killed vaccine at 11 days age strain LaSota, second vaccination by (D.W.) at 10 days

after first vaccination. Group (four) first vaccination by (S/C) of live attenuated vaccine with adjuvant and killed vaccine at 11 days age strain LaSota, second vaccination by (D.W.) at 10 days after first vaccination. Group (five) first vaccination by (D.W.) of live attenuated vaccine and killed vaccine at 11 days age strain LaSota, second vaccination by (D.W.) at 10 days after first vaccination. Group (six) where as untreated negative control. Group (seven) where as positive control first vaccination by (S/C) of normal saline at 11 days age, second vaccination by (D.W.) of N.S. at 10 days after first vaccination. Group (eight) where as positive control first vaccination by (D.W.) of normal saline at 11 days age.

#### المصادر

- 1-Mishra S., Kataria J.M., Verma K.C. and Sah R.L., (2000) Response of chicken to infectious newcastle disease virus isolated from guinea fowl. *Trop. Animal Health prod.* 32:277-284.
- 2-Alexander, D.J. (1997). Newcastle disease and other Paramyxoviridae infections. In: "Diseases of poultry", Calnek, B.W.; Barnes, H.J.; Beard, C.W. and McDougald, L., Saif Y.M., (Ed.), 10th ed., Iowa State University Press, Ames, Iowa. PP: 541-570.
- 3-Hooper, P.T., Russell, G.M., Morrow, C.J., and Segal, Y. (1999). Lentogenic Newcastle disease virus and Respiratory disease in Australian broiler chickens. *Aust. Vet. J.* 77(1):53-54.
- 4-Alder R.G., (2000), Strategies for vaccination of family poultry against newcastle disease in Africa, national veterinary research Institute, Maputo, Mosambique, pp1-7.
- 5-Samina Y.K., Gutter B.C., Cheal A.M. and Peleg B. A. (1999). Day-old vaccination with live-in-oil vaccine: newcastle disease and infectious bursal disease in chicks and ND in turkey. *poults. avian pathology* 28, 73-78.
- 6-Ojok, L. and Brown, G. (1996). An immunohistochemical study of the pathogenesis of virulent viscerotropic Newcastle disease in chickens. *J. Comp. Pathol.* 115: 221-227.
- 7-Stevens, J.G.; Nakamura, R.M.; Cook, M.L. and Wilczynski, S.P. (1976). Newcastle disease as a model for paramyxovirus-induced neurological

- syndromes: Pathogenesis of the respiratory disease and preliminary characterization of the ensuing encephalitis. *Infect Immun* 13: 590-599.
- 8-Hanson., R. P. (1980). Newcastle disease .Int:" Isolation and identification of Avian pathogen."Eds. by Hitchner, S.B., Domermuth H. C.; Purchase, H.G. and Williams. E. 2<sup>nd</sup> .Ed. The Arnold Printing Co., Itheca, New York.USA. pp.63-66.
- 9-Alexander, D.J. and Senne D.J. (2008). Newcastle disease, other avian paramyxoviruses, and pneumovirus infections, In: "Disease of Poultry". Saif, Y.M.; Barnes, H.J.; Glisson, I.R.; Fadly, A.M.; McDougald, L.R.;Nolan L.K. and Swayne, D.E. (Ed.), , 12<sup>th</sup> ed. Iowa State University Press, Ames, PP: 75-100.
- 10-Brown, C.; King D.J. and Seal, B. (1999a). Pathogenesis of Newcastle disease in chickens experimentally infected with viruses of different virulence. *Vet. Pathol.*36:125-132.
- 11-Drury R.A.B. and Wallington, E.A (1980).Carleton's histological technique.5<sup>th</sup> ed. Oxford University Press, Oxford.
- 12-Samuelson, D. A. (2007) . textbook of veterinary histology .saunders ,st louis ,missour. Ppt :1-3.
- 13-Kommers G.D.; King,D.J .;Seal,B.S.; Camichael K.P. and Brown,C.C. (2002) . pathogenesis of Six pigean-origin Isolates of Newcastle disease virus for domestic ckicken,*Vet.path.J.*39:353-359.
- 14-Nakamural, K. ; Ohsu, N. ; Nakamura, T. ; Yamamoto, Y. ; Yamada, M.;Masel, M. and Imai K. (2007) Pathologic and immunohistochemical studies of newcastle disease (ND) in broiler chikens vaccinated with ND: severe nonpurulant ecephalitis and necrotizing pancreatitis . Nationak Institute of animal Health ,Tsukuba ,Ibaraka 305 -0856 , Japan Email :Kn1122@affrc.go.ip.
- 15-Rithei, B.W; Harrison, G.J.and Harrison R.L. (2008)Avian medicine priciples and application-defense mechanism of avian host .*Zoological Education Network* pp:113-117.
- 16-Lui, Z.;Shimin, Z. ;Rong, G. ;Ping, W. ; Chunquan M. ; Shaoying C. ;Wenyi G. and Liping, Y. ,(1993) the immune response of chicken to Newcastle disease

- vaccine and immunoprotection mechanism against N.D(Abstract). Journal of Northeast Agricultural University ,Herbin 150030,china,p:03.
- 17-Cambridge (2003) Review of Newcastle disease viruswith particular references to immunity and vaccination (Abstract). Cambridge University press, World 's poultry Science Journal.59:185-200.
- 18-Davison F. , Kasper B. and Karel A. (2008) Avian immumology –practical aspect of poultry vaccination .Academic press is an imprint of Elsevier Typeset by charon Tec LTD ,Chennai ,India pp:373-394.
- 19-Hannover (2008). lectin and immuno histochemical investication on cellular alteration in chiken embryos following inoculation with Newcastle Disease virus (NDV)of different virulence.Thesis of Doctors philosophy,University of Veterinary Medicine Hanover.
- 20-Press, C.H.and Landsverk, U. T. (2006)Immune system In: Eurell J. U., FRAPPIER B. (Hrsg): Dellmann’s Textbook of Veterinary .Histology. 6thEd. Blackwell Publishing, Iowa, USA. pp. 134-152.