تأثير إضافة مسحوق الثوم في الاستجابة المناعية لفروج اللحم

علي عبد الحسين شلش * إسراء نجم عبد الله العبادي

*فرع الأمراض والدواجن – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير مستويين من مسحوق الثوم المضاف إلى عليقه فروج اللحم في الاستجابة المناعية للقاحي نيوكاسل و كمبورو .استخدم 120 فرخا من ذكور أمهات فروج اللحم فاوبرو خط CD بعمر يوم واحد، قسمت بعمر سبعة أيام إلى ثلاث مجاميع كل مجموعة 40 طيرا ، المجموعة الأولى (م1)غذيت بمسحوق الثوم بنسبة 1% في العليقه ، المجموعة الثانية (م2) غذيت بمسحوق الثوم بنسبة 2% في العليقه ومجموعة السيطرة (س) التي لم تعط ثوما في العليقه .

تم الانتظار لحين هبوط معيار أضداد نيوكاسل و كمبورو الأمومية وحتى عمر 34 يوما إذ تم التلقيح الأول في عمر 35 يوما بلقاح مزدوج نيوكاسل عترة لازوتا C30 و كمبورو عترة لوكرت ، والتلقيح الثاني بعد عشرة أيام من التلقيح الأول.

قيس معيار الأضداد المثبطة لتلازن الدم لمستضد نيوكاسل و معيار الأضداد الترسيبية لمستضد كمبورو بعد كل تلقيح بعشرة أيام فضلا عن قياس مستوى أضداد نيوكاسل و كمبورو في اختبار الاليزا وكانت النتائج كما يلي :

1- ارتفاع معنوي في معيار الأضداد المثبطة لتلازن الدم لمستضد نيوكاسل في المجموعتين م1 و م2 $p < 0.05$ مقارنة بمجموعة السيطرة.

2- ارتفاع معنوي في معيار الأضداد الترسيبية لمستضد كمبورو في المجموعتين م1 و م2 $p < 0.05$ مقارنة بمجموعة السيطرة بعد التلقيح الثاني فقط.

3- ارتفاع معنوي في معيار أضداد نيوكاسل و كذلك معيار أضداد كمبورو المقاسة بواسطة الاليزا للمجموعتين م1 و م2 $p < 0.05$ مقارنة بمجموعة السيطرة .

يستنتج بأن إضافة مسحوق الثوم الى العلائق العلفية وبنسبة 1و2% يزيد من الاستجابة المناعية لدجاج اللحم ضد مرضي نيوكاسل وكمبورو .

Effect of Garlic in ration on immune response of broiler chicken

*Ali A.H. Shalash Israa N. A. Al-Ibadi
Department of pathology and poultry
Baghdad University-College of Veterinary Medicine

Summary

This study was conducted to investigate the effect of two levels of garlic supplementation to broiler ration on immune response to Newcastle and Gumboro vaccines.

A total of 120 chick of broiler breeder males faobro strain were used at one day old. The birds at seven days old were divided into three groups. Each group was consisted of fourty birds. The first group (T1) was treated with garlic at 1% ratio. The second group (T2) was treated with garlic at 2% ratio , while control group (C) was not given garlic with ration.

The birds were immunized after decline of Maternal Antibodies of Newcastle and Gumboro until (34) days old. The first vaccine occurred at 35 day old with combined vaccine of Newcastle lasota -C30 strain and Gumoro Lukert strain, second vaccine was done after ten days from the first vaccine.

The titer of haemagglutination inhibition antibodies of Newcastle vaccine, titer of Gumboro precipitating antibodies and the titer of antibodies in ELISA test to these vaccine were measured after ten days of each vaccine, and the results were as follows:

-The titer of haemagglutinating inhibiting antibodies of Newcastle vaccine was increased significantly in T1 and T2 groups ($P < 0.05$) compared with control group.

-The titer of Gumboro precipitating antibodies was increased significantly in T1 and T2 groups ($P < 0.05$) compared with control group after second vaccine only.

-ELISA test results indicated a significant increase in titer of antibodies of Newcastle and Gumboro vaccines ($P < 0.05$) compared with control group.

المقدمة

إن التطور الحاصل في صناعة الدواجن يستدعي اكتشاف وسائل مختلفة لدعم صحة ووقاية الدجاج ومنها رفع المستوى المناعي للدجاج لمقاومته لمختلف الأمراض .

ودرس الباحث [1] بشمولية دور التغذية في رفع الاستجابة المناعية للدجاج وحددت الاحتياجات الغذائية اعتماداً على إمكانية تأثيرها على المناعة [2] ، وعندما أصبحت العلاقة واضحة

بين التغذية والتأثير المناعي ازدادت الدراسات التي تعتمد الاحتياجات الغذائية القياسية ودورها في البناء المناعي للجسم [3] كما ذكر الباحث [4] إن التغذية عامل مؤثر في تحسس واستجابة الطيور للتحدي الخمجي وبالنتيجة فهي تؤثر على تطور الجهاز المناعي في الجنين و أشار باحث إلى أهمية الثوم كدواء عشبي يستعمل للعلاج والوقاية من أمراض مختلفة [5] . إن مادة الالايين (Alliin) هي المسؤولة عن تحرر المواد الفعالة في الثوم وهي مشتقات الحامض الأميني السستين [6] ، و الالايسين الذي ينتج من عصر أو تقطيع الثوم إذ يتحرر أنزيم الالاينيز allinase محولاً الالايين إلى الالايسين [7] .كما أشار الباحث [8] أن للثوم فائدة كبيرة تكمن في تنشيط المناعة لا سيما الخلوية و زيادة إنتاج الانترفيرون كما وان للثوم عمل مضاد للإجهاد مما له تأثير على الجهاز المناعي و بمدى متغاير كما له تأثيرا مهدئا و ذلك من خلال تحرر السيروتونين كناقل عصبي [9] كما وان مركبات الثوم تعمل كمعدلات الاستجابة المناعية (Immunomodulatar) بتعزيز عمل خلايا البلعم الكبيرة و الخلايا اللمفاوية التائبة [10] . كما وان لمستخلصه المائي تأثيرا على المناعة الخلوية واضح من خلال تثبيطه القوي إلى هجرة العدلات خلال طبقة الخلايا البطانية الأحادية [11] كما انه يعد محفزا مناعيا[12].

استهدفت الدراسة الكشف عن تأثير إضافة مسحوق الثوم الى عليقه أفراخ اللحم على الحالة المناعية للأفراخ باستخدام نظام التلقيح المزدج للقاحي نيوكاسل و كمبورو .

المواد و طرائق العمل

أفراخ التجربة

أجريت هذه الدراسة على ذكور أمهات فروج اللحم خط CD (فاوبرو) بعدد120 فرخا و بعمر 7 أيام قسمت إلى ثلاث مجاميع متساوية بواقع 40 فرخا للمجموعة الواحدة و تم تربية الأفراخ في غرف معدة لذلك و تحت ظروف تربية متماثلة و أما العلف فقد استلم من مركز إباء للأبحاث الزراعية جاهزا لتربية أفراخ اللحم .

معاملة المجاميع

مجموعة (م1) : عليقه تحتوي على مسحوق الثوم بنسبة 1%.

مجموعة (م2) : عليقه تحتوي على مسحوق الثوم بنسبة 2%.

مجموعة (س) : عليقه اعتيادية بدون مسحوق الثوم (مجموعة السيطرة)

مسحوق الثوم

استخدمت بصلة الثوم المجففة ثم فرمت بماكنة الثرم الاعتيادية فتحولت الأبصال إلى مسحوق، جفف مرة أخرى في الظل لمدة 48 ساعة.

اللقاحات

لقاح نيوكاسل C30 و أعطي كل طير جرعة مخمجة قدرها 10^7 جرعة خامجة لـ50 % لاجنة الدجاج EID_{50}. ولقاح كمبورو عترة لوكرت و بجرعة قدرها 10^4 pfuلكل طير .

التلقيح

تم الانتظار لحين هبوط معيار أضداد نيوكاسل و كمبورو الأمومية حتى عمر 34 يوماً ولقحت في عمر35 يوم وبعد عشرة أيام سحبت نماذج الدم من عشرين طيراً لكل مجموعة لفحص الأضداد المناعية ولقحت تلقيحاً ثانياً في اليوم نفسه ، ولقحت تلقيحاً مزدوجاً في كل مرة [13] وكانت عملية التلقيح بماء الشرب بالتجريع مباشرة بالحوصلة .

سحب الدم لقياس معيار الأضداد الأمومية

جمعت نماذج الدم من الوريد الوداجي و الجناحي بشكل عشوائي بعمر 3 ، 7 ، 21 ، 34 يوماً من عمر الأفراخ لتحديد مستوى المناعة الأمومية ضد مرضي نيوكاسل و كمبورو لتحديد الوقت الملائم للتلقيح.

سحب الدم لقياس معيار الأضداد بعد التلقيح

جمعت نماذج الدم من 20 فرخاً من كل مجموعة بحدود 2.5 مل من كل فرخ بعد 10 أيام من التلقيح وجمع الدم من الوريد الوداجي بواسطة محاقن طبية معقمة وفصلت المصول منها لأجراء فحص تثبيط التلازن الدموي و اختبار الترسيب في هلامة الأكار و حفظ المتبقي في المجمدة – 20 م° لحين إجراء اختبار الاليزا.

الاختبارات المناعية

1- اختبار تثبيط التلازن الدموي (HIT) اجري بطريقة بيتا [14] .

2- اختبار الترسيب في هلامة الأكار(A G P T) :حسب طريقة [15]

3- اختبار الممتز المناعي المرتبط بالأنزيم (ELISA) : [16]

الطرائق الإحصائية

اجري فحص التباين (ANOVA) وفحص F الإحصائي الذي تبع بمجال الثقة وفحص اصغر فرق معنوي (LSD) للمقارنات [17] .

النتائج

1- معدل المعيار الحجمي لاضداد نيوكاسل المثبطة لتلازن الدم :

أ- اضداد نيوكاسل الامومية :

ظهر أن معدل المعيار الحجمي لاضداد مرض نيوكاسل الاومية بعمر يوم واحد بلغ 1.8 وتوبعت حتى عمر 34 يوماً اي قبل التلقيح الاول حتى وصلت الى 0.3.

ب- اضداد نيوكاسل بعد التلقيح الاول :

يوضح الجدول (1) معدل المعيار الحجمي للاضداد المثبطة لتلازن الدم لمستضد نيوكاسل في مصل دم الافراخ بعد التلقيح الأول . وقد بينت نتائج اختبار تحليل التباين وفحص F الإحصائي وجود فروقات معنوية وهذا ما تبين عند اجراء فحص مجال الثقة للمقارنات المتعددة ، اذ نلاحظ ان المجموعة م2 أظهرت اعلى معدل للاضداد المثبطة لتلازن الدم وبفرق معنوي قدره $P < 0.05$ عن المجموعتين م1 و س وكذلك اظهرت المجموعة م1 فرقاً معنوياً قدره $P < 0.05$ عن مجموعة السيطرة .

جـ- أضداد نيوكاسل بعد التلقيح الثاني :

يوضح الجدول (1) معدل المعيار الحجمي للاضداد المثبطة لتلازن الدم لمستضد نيوكاسل في مصل دم الافراخ بعد التلقيح الثاني. وقد بينت نتائج اختبار تحليل التباين وفحص F الإحصائي وجود فروقات معنوية وهذا ما تبين عند اجراء فحص مجال الثقة للمقارنات المتعددة ، اذ نلاحظ ان المجموعتين م1 و م2 قد

اظهرتا اعلى معدل للاضداد المثبطة لتلازن الدم وبفرق معنوي قدره $P < 0.05$ عن مجموعة السيطرة بينما لم يظهر فرق معنوي بين المجموعتين م1 و م2 .

الجدول (1) معدل المعيار الحجمي لاضداد مرض نيوكاسل المثبطة لتلازن الدم Log_{10}

المجموعة	بعد التلقيح الأول		بعد التلقيح الثاني	
	المعدل	الخطأ القياسي	المعدل	الخطأ القياسي
م1	1.445c	0.08±	2.28b	0.054±
م2	1.854b	0.11±	2.16b	0.083±
س	0.736a	0.14±	1.63a	0.126±

a و b و c : يوجد فرق معنوي $P < 0.05$ بين المجاميع باختلاف الحروف عمودياً.

2- معدل المعيار الحجمي للاضداد الترسيبية لمستضد كمبورو :

أ- اضداد كمبورو الاومية :

كان معدل المعيار الحجمي للاضداد الترسيبية الاومية بعمر يوم (0.3) وبعمر اسبوع هو (صفر) .

ب- بعد التلقيح الاول :

اظهر اختبار تحليل التباين عدم وجود فرق معنوي بين المعدلات اذ كانت (صفراً) للمجاميع الثلاث.

جـ- اضداد كمبورو بعد التلقيح الثاني :

يوضح الجدول (2) معدل المعيار الحجمي للاضداد الترسيبية في هلامة الاكار للمجاميع م1 و م2 و س . وقد اظهر تحليل التباين وفحص F الاحصائي وجود فروقات معنوية بين مجاميع التجربة وهذا ما تبين عند اجراء فحص مجال الثقة وفحص اصغر فرق معنوي بين المعدلات اذ نلاحظ ان المجموعتين م1 و م2 قد اظهرتا اعلى معدل للاضداد الترسيبية وبفرق معنوي قدره $P < 0.05$ عن مجموعة السيطرة ، في حين لم يظهر فرق معنوي بين المجموعتين المعاملتين بالثوم م1 وم2.

الجدول (2) معدل المعيار الحجمي للاضداد الترسيبية لمستضد كمبورو بعد التلقيح الثاني Log_{10}

المجموعة	المعدل	الخطأ القياسي
م1	0.45 a	$\pm$ 0.1
م2	0.6 a	$\pm$ 0.06
س	0 c	

a و c : الاحرف المختلفة عمودياً تشير إلى وجود فرق معنوي بين المجاميع $P<0.05$ والاحرف المتشابهة تشير الى عدم وجود فرق معنوي.

3- معدل المعيار الحجمي لاضداد مرض نيوكاسل في اختبار الاليزا :

أ- بعد التلقيح الاول :

يوضح الجدول (3) معدل المعيار الحجمي لاضداد مرض نيوكاسل في اختبار الاليزا لمجاميع التجربة. وقد بينت نتائج اختبار تحليل التباين وفحص F الاحصائي وجود فروقات معنوية بين المجاميع. وهذا ما تبين عند اجراء فحص اصغر فرق معنوي وفحص مجال الثقة للمقارنات المتعددة اذ نلاحظ ان المجموعة م2 اظهرت اعلى معدل للاضداد وبفرق معنوي قدره $P < 0.05$ عن المجموعتين م1 والسيطرة س، وتفوقت م1 على مجموعة السيطرة بفرق معنوي قدره $P < 0.05$.

ب- بعد التلقيح الثاني :

يوضح الجدول (3) معدل معيار الاضداد لمستضد مرض نيوكاسل في اختبار الاليزا لمجاميع التجربة بعد التلقيح الثاني . وقد اظهر تحليل التباين وفحص F الاحصائي وجود فروق

معنوية بين المجاميع . وهذا ما تبين عند اجراء فحص مجال الثقة ، اذ اظهرت المجاميع المعاملة بمسحوق الثوم م1 و م2 اعلى معدل للاضداد وبفرق معنوي قدره $P < 0.05$ عن مجموعة السيطرة ، ولم يظهر فرق معنوي بين المجموعتين م1 و م2 .

الجدول (3) معدل المعيار الحجمي للاضداد مرض نيوكاسل في اختبار الاليزا Log^{10}

المجموعة	بعد التلقيح الاول		بعد التلقيح الثاني	
	المعدل	الخطأ القياسي	المعدل	الخطأ القياسي
م1 c	3.097	0.085± b	3.230	0.120±
م2 b	3.321	0.298± b	3.488	0.105±
س a	2.079	0.079± a	2.092	0.124±

a و b و c : الأحرف المختلفة عمودياً تشير الى وجود فروقات معنوية بين المجاميع $P<0.05$

4-معدل المعيار الحجمي لاضداد مرض كمبورو في اختبار الاليزا :

أ- بعد التلقيح الاول :

يوضح الجدول (4) معدلات معيار اضداد كمبورو في اختبار الاليزا بعد التلقيح الاول . وقد اظهرت نتائج تحليل التباين وفحص F الاحصائي وجود فرق معنوي بين المجاميع وهذا ما تبين عند اجراء فحص مجال الثقة واظهرت مجموعة م2 اعلى معدل وبفرق معنوي قدره $P < 0.05$ عن المجموعتين م1 و س ، وقد اظهرت م1 فرقاً معنوياً قدره $P < 0.05$ عن مجموعة السيطرة.

ب- بعد التلقيح الثاني :

يوضح الجدول (4) معدلات معيار اضداد كمبورو في فحص الاليزا بعد التلقيح الثاني . وقد اظهرت نتائج تحليل التباين وفحص F الاحصائي وجود فرق معنوي بين المجاميع وهذا ما تبين عند اجراء فحص مجال الثقة بين المعدلات المختلفة اذ اظهرت مجموعتي م1 و م2 اعلى معدلات وبفرق معنوي قدره $P < 0.05$ عن مجموعة السيطرة في حين لم يظهر اي فرق معنوي بين المجموعتين م1 و م2 .

الجدول (4) معدل المعيار الحجمي لاضداد مرض كمبورو في اختبار الاليزا Log_{10}

المجموعة	بعد التلقيح الاول		بعد التلقيح الثاني	
	المعدل	الخطأ القياسي	المعدل	الخطأ القياسي
م1 c	3.50	0.350± b	3.200	0.096±
م2 b	3.83	0.028± b	3.324	0.086±
س a	3.00	0.060± a	2.002	0.124±

a و b و c : الأحرف المختلفة عمودياً تشير الى وجود فروق معنوية بين المجاميع $P<0.05$ والأحرف المتشابهة تشير الى عدم وجود فرق معنوي.

المناقشة

- اختبار تثبيط التلازن الدموي HI :

أظهرت النتائج وجود فروقات معنوية بين المجاميع الثلاث بعد التلقيحتين الأولى والثانية إذ أظهرت المجموعة م2 أعلى معدل وبفرق معنوي عن المجموعتين م1 و س ، كذلك تفوقت م1 على س بعد التلقيح الأول في حين تفوقت كلتا المجموعتين م1 و م2 على مجموعة س وبدون فرق معنوي بين م1 و م2 بعد التلقيح الثاني.

يعتمد الاختبار أعلاه لتقويم الاستجابة المناعية الخلطية للطيور ضد مرض نيوكاسل في عينات مصولها [18] إذ انه من أهم صفات حمة مرض نيوكاسل هو التلازن مع خلايا الدم الحمر للطيور وبعض الحيوانات [19] ، عند دخول المستضد للجسم بواسطة التلقيح أو الإصابة الطبيعية تقوم البلاعم بابتلاع المستضد ثم عرض جزء من المستضد على غشائها مما يؤدي إلى تحفيز الخلايا اللمفاوية نوع - ب - على إنتاج الأضداد ، كما تقوم البلاعم أيضا بإنتاج المدورات الخلوية Interleukin(IL) و الانترفيرون كاما والفا التي تحفز الخلايا اللمفاوية البائية على إنتاج الأضداد. كما ان الخلايا اللمفاوية التائية تتمايز وتنقسم بحسب عملها إلى خلايا تائية مؤثرة وخلايا تائية مساعدة والتي تلاقي المستضد المعروض على غشاء البلاعم ونتيجة لتحفيز IL-1 تفرز مواد مساعدة منها IL-2 الذي يحفز استجابة الخلايا اللمفاوية نوع - ب - التي تنتج الضد IgM مما يؤدي الى تحويلها خلايا اللمفاوية نوع - ب - منتجة الأضداد نوع IgG [20] ، ومما يعزز دور الثوم في الميكانيكية أعلاه ، إن الثوم يحفز تكاثر الخلايا اللمفاوية و البلاعم وينشط عملية البلعمة

وكذلك يحفز إنتاج المذورات الخلوية IL-2 و الانترفيرون كاما باعتباره منشطاً مناعياً [21] . وان زيادة إنتاج الأضداد بعد المعاملة بالثوم يتفق مع ما توصل إليه الباحثون [22]

- اختبار الترسيب في هلامة الأكار AGPT :

أظهرت نتائج اختبار AGPT عدم وجود فروقات معنوية بين المجاميع بعد التلقيح الأول ، بينما أظهرت وجود فرق معنوي بين المجاميع المعاملة م1 و م2 مع مجموعة السيطرة بعد التلقيح الثاني إذ أعطت م2 أعلى معدل ، ويعد فحص الترسيب في هلامة الأكار اقل حساسية من اختبار التعادل الحموي في الكشف عن أضداد حمة كمبورو [23] وكذلك اقل حساسية من فحص الاليزا وانه يشخص أضدادا غير الأضداد المشخصة بفحصي التعادل الحموي و الاليزا [24] .

أما سبب ظهور الفرق المعنوي بعد التلقيح الثاني قد يعزى إلى أن الاستجابة المناعية الثانوية تمتاز عن الاستجابة الأولية بقصر الفترة الكامنة أو المحدثة ، وكذلك فإن سرعة إنتاج الأضداد يكون اكثر وبمستويات عالية تبقى لفترة طويلة بسبب وجود الخلايا الذاكرة الموجودة وقت إعطاء الجرعة الثانية من الممنع وهذه حساسية للمستضد المحقون [25] .

- اختبار الاليزا ELISA :

أظهرت نتائج هذا الاختبار لأضداد نيوكاسل تفوق المجموعة م2 بشكل معنوي على مجموعة السيطرة والمجموعة م1 وتفوق م1 بشكل معنوي أيضا على مجموعة السيطرة بعد التلقيح الأول . أما بعد التلقيح الثاني فقد تفوقت كلتا المجموعتين م1 و م2 على مجموعة السيطرة بدون وجود فرق معنوي بين م1 وم2.

إن فحص الاليزا فحص حساس [26] ويكشف عن وجود أضداد نيوكاسل في المصل لأكبر عدد ممكن من العينات وهناك ارتباط بين اختبار الاليزا واختبار HI ، لكن اختبار HI يعد اختباراً في متناول اليد لتقويم المناعة [27] .

إن إعادة التمنيع بعد ان ينخفض معيار الأضداد بعد التلقيح الأول يؤدي إلى استجابة مناعية ثانوية[14] .

أما نتائج اختبار الاليزا لأضداد كمبورو فقد أظهرت تفوق المجموعة م2 بشكل معنوي على مجموعة السيطرة وكذلك على مجموعة م1 التي تفوقت بدورها بشكل معنوي على مجموعة السيطرة هذا بعد التلقيح الأول ، أما بعد التلقيح الثاني فتفوقت كلتا المجموعتين م1 و م2 على مجموعة السيطرة وبشكل معنوي بدون وجود فرق معنوي بين م1 و م2 .

إن فحص الاليزا فحص تطبيقي لمراقبة المناعة والتقصي عن مستوى الأضداد المناعية في القطعان وتتبع برامج التمنيع ، يرتفع معيار الأضداد الموجهة ضد حمة كمبورو في اختبار الاليزا

عند الطيور الملقحة تلقيحتين مقارنة بالطيور الملقحة تلقيحه واحدة . وعند مقارنة نتائج فحص الاليزا غير المباشرة مع نتائج فحص الترسيب في هلامة الأكار AGPT لتعيين مستويات الأضداد في الطيور فإن بعض العينات كانت سالبة في اختبار AGPT وموجبة في اختبار الاليزا مما يشير إلى شدة حساسية هذا الاختبار[28] .

REFRENCES

1. Cook M.E. (1991). Nutrition and immune response of domestic fowl. Critical Reviews in Poultry Biology, 3: 167-184. Cited in ``Poultry immunology`` Eds by Davison, T.F.; Morris, T.R. and Payne, L.N. Jr. 1st. Ed., Oxford, U.K. p. 321.
2. National Research Council (NRC). (1994). Nutrient Requirements of poultry, 9th edition (Washington DC, National Academy Press).100
3. Cook, M.E. (1996). Diet induced immunosuppression In: Poultry immunology, 1st. Ed. P: 318.
4. Klasing, K.C. (1996). Immunomodulation in poultry: In Poultry Immunology, Eds by Davison et al., 1st. Eds., Oxford , U.K.
5. Campo, J.I., (1995). Comparative yolk cholesterol content in four Spanish breeds of hens on F2 cross and a White Leghorn Population. Poultry Sci., 74: 1061-1066.
6. Schwimmer, S. and Mazetis, M. 1963. Characterization of allinase of Allium cepa (onion). Arch. Bioch. Biophys. 66-100.
7. Borek, C. (2000 b). Issue of Nutrition Science news, Understanding herbs. (Internet).
8. Webmaster, (2001). The immune system. Part 3. American Enterprises Ltd. (internet).
9. McGowan, Meg (1996). Immunity Boosters. Conscious choice , Nov. (internet)
10. Lau, B.H., Yamasaki, T. and Gridley, D.S. (1991). Garlic compounds modulate macrophage and T-lymphocyte functions. Abstr. Mol Biother, Jun, 3: 2, 103-7.
11. Hofbauer, R.; Frass, M.; Gmeiner, B.; Kaye, A.D. and Frost, E.A. (2001). Effects of garlic extract (Allium sativum) on neutrophil migration at the cellular level, Heart Dis., 3 (1): 7-14 (Internet).
12. Henderson, A.D. (1997). Allium sativum (garlic) treatment for murine transitional cell carcinoma. Cancer weekly plus Jr. P. 41.

13. Shalash A. A. H. and Al-Ruffaii, M. H. (2002). The application of combined and single vaccination programs for ND and IBD in broiler chicks .Excepted for puplication in Vet . J. Vol. 2
14. Allan, W.H.; Lancaster, J.E. and Toth, B. (1978). Newcastle Disease vaccine, their production and use. Food and Agriculture Organization of the United Nation, Rome.
15. Cullen, G.A. and Wyth, P.J. (1975). Quantitation of antibodies to infectious bursal disease. Vet. Rec. 18: 315.
16. Collee, J.G; Fraser, A.G.; Marmion, B.P. and Simmons, A. (1996). Practical Medical Microbiology. 14th (ed). p. 858.
17. المحمد ، نعيم ثاني ، خاشع محمد الراوي ، مؤيد يونس ووليد المراني (1989) مبادئ الإحصاء ، مديرية دار الكتب للطباعة والنشر جامعة الموصل .
18. Beard, C. W. and Brugh, M. (1975). Immunity to Newcastle disease. Am. J. Vet. Res. 36: 509-512.
19. McFerran, J.B.; Gordon, W.A. and Finaly, J.T. (1968), An outbreak of subclinical ND. in N. Ireland , Vet. Rec. 82: 589-592.
20. Sheffy, B.E. and Schultz, R.D. (1979). Influence of vitamin E and selenium on Immune response mechanisms. Federation Proceedings. 38: 2139.
21. Lam, D.L., and Riggs, D.R. (2001). Enhanced immunocompetence by garlic: Role in bladder cancer and other malignancies. J. Nutr. 131 (3s): 10675-70s. (Pub Med).
22. Szigeti, G.; Palfi, V.; Nags, B.; Edes, I.; Nagy, G.; Szmoleny, G.; Bago, G. and Radvanyi, S.Z. (1998). New type of immuno - stimulant to increase antibody production in response to viral and bacteria vaccines, (Magyar – Allatorvosok - Lapja). (No. 12). P. 719-721. (Medline).
23. Weisman, J. and Hitchner, S.B. (1978). Virus neutralizing versus agar gel precipitating test for detecting serological response to IBDV. Avian Dis. 22: 598-603.
24. Marquardt, W.; Jonson, R.B.; Odenwald, W.F. and Schotthober, B.A. (1980). An indirect ELISA for measuring antibodies in chickens infected with IBDV. Avian Dis. 24: 375-385.
25. خليفة ، خليفة احمد (2000) أسس علم المناعة . الطبعة الثانية مطابع التعليم العالي والبحث العلمي في الموصل . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، العراق .
26. Barrett, J.T. (1988). Textbook of immunology. 5th (ed.), Toronto, Washington, p. 200.

27. Dennis, J. and D.J. Alexander. (1997). Newcastle diseases and other avian paromyxoviridae infections In: Diseases of poultry, Eds by Calnek et al., 10th ed. Iowa State University Press. p. 554.

28. Sofei , D.M. ; Avram , E. ; Oporanu , M. ; Oltean , E. ; Turcu, D. and Vior , E. (1996). Elisa for immunological surveillance in infectious bursal disease In : studies of research in Vet. Med. The Jr. of the pasteur institute , Bucharest. 4 : 22-28.