المجلة الطبية البيطرية العراقية 34 (2): 157 – 161 ، (2010).

دراسة استخدام فيتامين C لتقليل التثبيط المناعي بسموم الافلا في دجاج اللحم

حسيبة عباس عمران

فرع الامراض والدواجن/كلية الطب البيطري- جامعة بغداد

الخلاصة

لغرض دراسة الدور السلبي لسموم الافلا على الاستجابة المناعية للقاح النيوكاسل وتاثر هذه الاستجابة ايجابيا باضافة فيتامين C في ماء الشرب في دجاج اللحم المربى على عليقة حاوية على سموم الافلا، تم تقسيم 75 فرخ بعمر يوم واحد الى ثلاثة مجاميع. تم اعطاء المجموعة الاولى علف خالي من سموم الافلا واعتبرت مجموعة سيطرة وقدم للمجموعة الثانية والثالثة علف ملوث بسموم الافلا بتركيز 26 جزء بالمليون منذ اليوم السادس وحتى نهاية التجربة، مع اضافة فيتامين C في ماء الشرب للمجموعة الثالثة فقط بتركيز 125 ملغ/لتر ماء.

لقحت المجاميع الثلاث لقاحين ضد مرض نيوكاسل، الاول بعمر 10 يوم واللقاح الثاني بعمر 20 يوم وتم قياس الاستجابة المناعية الخلطيه باعتماد اختبار الاليزا بأعمار 6، 19 ، 31 يوم كما اجري اختبار التحدي بعمر 32 يوم لكل المجاميع بعترة نيوكاسل حلقية ضارية Z 2003 وبجرع 10^7EID_{50} وبينت النتائج ان المجموعة الاولى صاحبة اعلى معدل للأضداد حيث كانت النتيجة 3239±249.3 بعمر 19 يوم و 10186.6±845.3 بعمر31 يوم وبمستوى معنوي $P<0.01$كما اظهرت نسبة حماية ضد التحدي مقدارها 100% في حين كانت المجموعة الثانية صاحبة ادنى معدل للاضداد 2622.6±273.9 بعمر 19 يوم و 5712.5±786.9 بعمر31 يوم وبمستوى معنوي $P<0.01$ ونسبة حماية ضد التحدي بنسبة 66.67% في حين ان المجموعة الثالثة كانت معدل الأضداد ونسبة حمايتها ضد التحدي اقل من المجموعة الاولى واعلى من المجموعة الثانية حيث كانت معدلاتها 2795±93.9 بعمر 19 و 730.1±246.7 بعمر 31 يوم وكانت نسبة الحماية 80% وهذا يشير الى التأثير المثبط لسموم الافلا على المناعه والتاثير الايجابي لفيتامين Cالايجابي على الكفاءة المناعيه للقاح نيوكاسل.

Study of Using Vit. C to Reduce the Toxic Immunosuppressive Effect of Aflatoxin in Broilers

Hassiba A. Omran

Department of poultry disease and pathology- veterinary medicine college-Baghdad University

Accepted- /2010.

Summary

This study was conducted to investigate the adverse effect of aflatoxine contaminated ration on immune response induced by N D vaccine in broilen and the effect of adding vit C in drinking water in reducing the aflatoxine immune supportive effect.

A total of 75 day old broiler chicken were divided randomly in to three equal groups , the first group was feed aflatoxine free ration while second and third groups were feed on aflatoxine contaminated ration at 6 day of age, in addition to that the third group have received vit C in a drinking water (125 mg/litter). The birds were immunized twice with ND vaccine at 10, 20 day of age and ELISA test was carried out to estimate the humeral immunity response at 6, 19, 31, days of age.

All the groups were challenged with velogenic ND strain (Z 2003). At 32 day of age. The results showed that the first group has high significant antibodies titer reach to 3239±249.3 at 19 days of age and 10186± 845.3 at 31 days of age with significant level $p< 0.01$ and high protection ratio against challenge (100%) at 32 days of age, while the second group showed a low antibodies titer reach to 2622.6± 27.3 at the 19 days of age and 5712.5± 786.9 at 31 days of age and low protection ratio against challenge (66.67%). the third group showed a high significant antibodies titer reach to 2795± 930.9 at 19 days of age and 7030.1± 246.7 at 31 days

of age with significant level p< 0.01 with a protection ratio against challenge 80% at 32 days of age which mean that the third group showed antibodies titer and protection ratio lower than the first group and higher than second group. This study was concluded that giving diets contaminated with aflatoxine cause adverse effects on immune response while the administration of vit C in drinking water improves it .

المقدمة

تعتبر سموم الافلا من السموم الفطرية الشديدة السمية وهي عبارة عن نواتج ثانوية ايضية لبعض الفطريات [1] وتسبب تأثيرات ضارة ومختلفة للأنسان والحيوان. اما تأثيرها على الدواجن فيكمن في تأخر نمو وضعف كفاءة التحويل الغذائي وضعف المناعة وخفض فعاليات اللقاحات وزيادة الاصابة بالامراض [2]، ويسبب الخزن الرديء للاعلاف توفر بيئة ملائمة لنمو الفطريات وانتاجها للسموم[3] ومن الوسائل الممكنة للسيطرة على نمو الفطريات وافرازها للسموم استخدام بعض المواد الحافظة والمضادات الفطرية مثل Sorbates وPropionate وBenzoate الا انه وحسب دراسة الهاشمي [4] وجد انها تؤثر سلبيا على الاستجابة المناعية للقاح نيوكاسل.

ونظرا للدور الايجابي الذي يلعبه فيتامين C لمجابهة الاجهاد بأنواعه [5] وتأثيره المعزز على مناعة الدجاج والصورة الدمية[6] كما يعتبر هذا الفيتامين داعم لوظيفة الجهاز المناعي من خلال تعزيزه انتاج العدلات (hetrophil) كذلك دوره في حماية الخلايا من الضرر المتسبب عن الجذور الحرة بمعادلتها والتخلص منها [7] كما انه يعتبر عامل مضاد للأكسدة مما يعزز المناعة ايضا[8] لذلك هدفت هذه الدراسة على اظهار دور فيتامين C وتاثيره على مناعة الدجاج والتقليل من التأثير المثبط لسموم الافلا على الاستجابة المناعية للقاح نيوكاسل.

المواد وطرائق العمل

1. الافراخ:

استخدم في التجربة 75 فرخ من افراخ اللحم التجارية (هابرد) بعمر يوم واحد، قسمت الافراخ الى ثلاث مجاميع تحوي كل مجموعة 25 فرخاً وضعت في اماكن معزولة عن بعضها البعض في فرع الامراض والدواجن /قسم الدواجن وعرضت الى نفس ظروف التربية والاداره وعوملت كما يلي:

المجموعة الاولى (م1): اعطيت عليقة خالية من التلوث بسموم الافلا الفطرية.

المجموعة الثانية (م2): اعطيت ومنذ اليوم السادس من عمر الطير عليقة ملوثة بسموم الافلا الفطرية وبتركيز 26 جزء من المليون والتي تم قياسه في فرع الصحة العامه.

المجموعة الثالثة (م3):): اعطيت ومنذ اليوم السادس من عمر الطير عليقة ملوثة بسموم الافلا الفطرية وبتركيز 26 جزء من المليون مع اضافة 125 ملغم/لتر فيتامين C الى ماء الشرب.

تم تطبيق برنامج لقاحي واحد للمجاميع الثلاث حيث لقحت ضد مرض النيوكاسل بعمر 10 يوم وبعترة B1 ثم اعيد التلقيح بعمر 20 يوم وبعترة Lasota كما لقحت الافراخ لقاحين ضد مرض التهاب جراب فابريشيا المعدي باستخدام لقاح D78 بعمر (7 و14) يوم كاجراء وقائي ضد الاصابة الحقلية وجميع هذه اللقاحات من انتاج شركة Intervet الهولندية. وعرضت 15 فرخ من كل مجموعة للتحدي بعترة نيوكاسل الحقلية الضارية Z 2003 تم الحصول عليها من فرع الامرض والدواجن والمعزولة من قبل د.عبد الامير زاهد وبجرعة 10^7EID_{50} وبعمر 32 يوم.

2. جمع نماذج الدم:

تم جمع 5 عينات دم من كل مجموعة من القلب مباشرة، وضعت في انابيب اختبار معقمة وعرضت لعملية الطرد المركزي للحصول على الامصال والتي اجري عليها اختبار الاليزا (في مختبر المجموعة)لغرض قياس معيار الاضداد الناتجة عن الاستجابة المناعية وذلك بعمر 19 يوم لقياس المناعة المتكونة من اللقاح الاول (اعطي بعمر 10 يوم) وكذلك بعمر 31 يوم لقياس المناعة المتكونة من اللقاح الثاني (اعطي بعمر 20 يوم) كما تم قياس المناعة الامومية بعمر 6 يوم.

النتائج

يبين الجدول (1) معدل المعيار الحجمي لاضداد مرض نيوكاسل في اختبار الاليزا لمجاميع التجربة وقد بينت النتائج وجود فروقات معنوية بين المجاميع حيث اظهرت المجموعة الاولى اعلى معدل للاضداد وبفرق معنوي $P<0.01$ عن المجموعتين الثانية والثالثة تلتها المجموعة الثالثة والتي كان معدل الاضداد فيها اعلى من المجموعة الثانية وبفرق

معنوي مهم P<0.01 كما يوضح الجدول ايضا معدل معيار الاضداد لمستضد نيوكاسل بعد التلقيح الثاني بعمر 31 يوم حيث كانت الفروقات بين المجاميع اكثر وضوحاً وتفوقت المجموعة الاولى عن المجموعتين الثانية والثالثة وبمعدلات اعلى وبفرق معنوي P<0.01 تلتها المجموعة الثالثة بينما بقيت المجموعة الثانية صاحبة ادنى مستوى للاضداد.

جدول رقم (1):

العمر (يوم)	م1	م2	م3
19	c 3239.3±249.3	a 2622.6±373.9	b 2795±930.9
31	c 101186.6±845.3	a 2712.5±786.9	b 7030.1±246.7

***الحروف المختلفة تمثل وجود فروقات معنوية P<0.01 بين المجاميع بنفس العمر.**

***علما ان المناعة الامية لافراخ التجربة كانت 2460 (معدل الاضداد).**

يوضح الجدول (2) نسبة هلاك الافراخ ونسبة الحماية ضد التحدي بعمر 32 يوم بعترة نيوكاسل حقلية ضارية حيث اظهرت النتائج ان المجموعة الاولى لم تسجل اي هلاكات كما كانت نسبة الحماية 100% كما اظهرت المجموعة الثانية اعلى نسبة هلاكات 33.3% ونسبة حماية مقدارها 66.67% اما المجموعة الثالثة فكانت نسبة الهلاكات 20% ونسبة الحماية 80%.

جدول رقم (2):

المجموعة	عدد الهلاكات	نسبة الهلاكات	نسبة الحماية
م1	0/15	0%	%100
م2	5/15	33.3%	%66.67
م3	3/15	20%	%80

المناقشة

اساسيات نجاح تربية الدواجن والانتاج الجيد تقديم اعلاف جيدة وخالية من الجراثيم والفطريات والسموم الفطرية. ومشكلة السموم الفطرية وخاصة سموم الافلا والتي لها تاثير ضار على الانسان والحيوان والنبات [1], انها مركبات شديدة السمية ومسرطنة[2] وفعالة في تعزيز الطفرات الوراثية واحداث تغيرات هرمونية وزيادة القابلية على الاصابة بالامراض [9] وفيما يخص المناعة فأن سموم الافلا مركبات مثبطة للمناعة الخلطية والخلوية, وتؤثر على عملية البلعمه او الالتهام Phagocytosis وتثبط تكوين المتمم complement system وغيرها.[10] ولذلك استخدم في هذه الدراسة فيتامين C كعامل معزز وداعم للاستجابة المناعية للطيور بوصفه عاملا مضادا للاجهاد بانواعه الغذائي والحراري والمرضي[8] كما ان حاجة الطير الى هذا الفيتامين يفوق مايصنعه في جسمه لسد حاجته منه عند التعرض للاجهاد [11]. ومن وظائف فتامين C تنشيط فعاليات الخلايا وزيادة استهلاك الاوكسجين وتأثيره على الجسم عموما كما يلعب دورا في العمليات الحيوية وذلك لازالة الكثير من المواد السامة من الجسم عن طريق البول والصفراء ونقصه يقلل من فعالية الانزيمات المسؤولة عن عملية تحويل المواد السامة الى غير سامة[12] كما انه ضروري لتكوين هرمون الاستيروييد القشري وله قابلية على طرح الكثير من العناصر السامة عن طريق الكلية ومنها الافلا توكسين [13]. وقد لاحظ (Kassab, 1993)[5] ارتفاع معيار الاضداد لمرض نيوكاسل عند تجهيز دجاج اللحم بـ 300 ملغم/كغم علف من فيتامين C ويعتبر مرض نيوكاسل من الامراض الفايروسية الوبائية الشديدة الانتشار ويتصف بارتفاع نسبة الهلاكات بافراخ اللحم والبياض وبمختلف الاعمار [14] ويعد التلقيح والبرامج اللقاحية المختلفة من اهم الوسائل للسيطرة على هذا المرض, حيث يحفز فايروس مرض نيوكاسل عند دخوله جسم الطير المناعة الخلوية بعد 2-3 يوم من الاصابة [15]، وتظهر الاضداد المناعية في مصول الطيور خلال 6-10 يوم من دخول الفايروس[16] وقد تم اعتماد اختبار الاليزا في فحص مناعة الافراخ وتقييم المناعة الخلطية. لقد اظهرت نتائج اختبار الاليزا[17] وعدد الهلاكات والنسبة المئوية للحماية عند اجراء التحدي وجود فروقات معنوية بين المجاميع الثلاثة بعد التلقيحين الاول والثاني اذ اظهرت المجموعة الثانية انخفاض في معيار الاضداد بكلا العمرين (19-31) يوم كما اظهرت اقل نسبة حماية بعد التحدي وتاتي هذه النتائج من التاثير المثبط لسموم الافلا الناتجة عن ضمور في جراب فابريشيا، التوثة و الطحال[18] وهذا بدوره يودي الى ضعف او تدني في مستوى الاستجابة المناعية في الافراخ، لما لجراب فابريشيا من دور مهم في تصنيع الكلوبيولينات المناعية وبالتالي التأثير على تركيز الكلوبيولينات في مصل الدم [19] وبالعودة الى جدول (1) لوحظ ان المجموعة الثالثة اظهرت معدلات اضداد اعلى من المجموعة الثانية وعدد هلاكات اقل وهذا يعزى الى الدور الايجابي الذي يلعبه فيتامين C في تحسين الاستجابة المناعية في الافراخ. من خلال مساهمته في زيادة انقسام الخلايا اللمفية

B-cells وتكوين خلايا البلازما وتكوين الاضداد [12]، كما يزيد من عداد وفعالية الخلايا T cell ويحسن استجابة الخلايا اللمفية T,B. لقد اشار العديد من الباحثين الى دور هذا الفيتامين في تحسين المناعة بدوره كعامل مضاد للكبت المناعي كما وجد ان خلايا الجهاز المناعي تحوي على تراكيز عالية من هذا الفيتامين مقارنة مع تركيزه في مصل الدم وهو عامل مانع للاكسدة ومعادل للجذور الحرة، فقد بينت الدراسات تحسن المناعة الخلطية والخلوية من خلال زيادة انتاج الاضداد وتحسن وظيفة الخلايا العدلة [7]. اما المجموعة الاولى فكانت صاحبة اعلى المعدلات بين المجاميع وذلك لعدم تعرضها للسموم الفطرية التي تعرقل الاستجابة المناعية[20].

المصادر

1. Pier AC (1973). An over view of the mycotoxicosis of domestic nimals. J Am Vet Med Assoc. 163: 1259-1269.

2. Edds GT (1979). Aflatoxins. In: conference on mycotoxins in animal feeds and related to animal health. Adited by shimoda, w., food and drug administration report no 0 FDA/BVM. 79/139. PP 0 80/164 (cited by calnek, (1997).

3. Edds GT and Bortell RA (1983). Biological effects of alfatoxins in poultry In: alfatoxin and aspergillus flavus in corn. Edited by Diener, U.L., asquith, R.L., and Dickens, J.W., southern Cooperative Series Bulletin 279, Auburn University, Auburn, Al. pp: 56-61.

4. الهاشمي، لهيب محمد. (2000). تاثير استخدامات المضادات الفطرية على المناعة ضد مرض نيوكاسل في دجاج الحم. رسالة دبلوم/ كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد.

5. Kassab A Al-attar MA and Al-Taweel RN (1993). Effect of ascorbic acid on chickens experimentally infected with Escherishia coli. The veterinarian 3.

6. Mckee JS and Harrison PC (1995). Effect of supplemental ascorbic acid on the performance of broiler chickens exposed to multiple concurrent stressors poult. Sci. 74: 1772-1785.

7. Bendich A (1992). Ascorbic acid & immune function (Review). Proceeding of the 2nd Symposium, Ascorbic Acid in Domastic animals. Ittingen, Switzerland. Pp: 408-421.

8. Ferkat PR and Quershi MA (1992). Performance and immunity of heat stressed broilers fed vitamin and electrolyte- supplemented drinking water. Poult Sci. 71: 88-97.

9. Hoerr FJ (1997). Poisons and toxins. In: Diseases of poultry 10th ed., Edited by Calnek, B.W. Barnes, H.J.; Beard, C.W.; Mcdougald, L.R. and Salf, Y.M. Mosby- Wolf; USA. PP. 951-978.

10. نوار، مصطفى ورشاد الناطور (1989). الميكوتوكسينات والتسمم الميكوتوكسيني في الانسان والحيوان، الطبعة الاولى-منشورات الجامعة الاردنية.

11. Pardue SC and Thaxton JP (1986). Ascorbic acid in poultry. A review. World's Poult. Sci. 42: 107-123.

12. Klob E (1985). Recent findings on the importance and metabolism of ascorbic acid in domestic animals Mh. Vet. 40: 489-494.

13. Agudelo LG (1983). Possible causes of avian oedema. Poult. Intern. July, 8-14.

14. Alexander DJ (2003). Newcastle disease of poultry. in: "Diseases of poultry", 11th ed. Edited by Y.W. saif, H.J. Barnes, A.M. Fadly, J.R. Glisson, L.R. MCs Douglad and Snayne. Iowa state university press, Ames, Lowa, U.S.A. PP: 63-81.

15. Timms L and Alexander DJ (1977). Cell mediated immunoresponse of chickens to Newcastle disease vaccines. Avian Pathol. 6:51-59.

16. Alexander D (1996). Newcastle disease and other paramyxo virus. In: "Diseases of poultry" Eds by. Calek, B.W.; Barnes, H.D.; Beard, C.W.; Mcdoglad, L.R. and Saif, Y. M. 10th ed., Iowa state university press, Ames, Lowa, U.S.A. PP: 541.

17. Synder DB Marquadt WW Mallinson ET Savage PK and Allen DC (1984). Rapid serological profiling by enzyme- linked immunosorbent assay. Avian Dis. 28: 12-24.

18. Cook ME (1996). Diet in duced immunosuppression in: poultry immunology, 1st ed.,P: 318.

19. Glick B (1977). The bursa of fabriius and immunoglobulin synthesis. Int. Rev. Cytol., 48:345-402.

20- Forag RS Daw ZY Hewedi FM and El-Baroty GS (1989). Antimicrobial activity of some Egyptain speceessential Ols.J Food Protection. 52: 665- 667.