# تأثير الليفاميزول كمحفز مناعي على الاستجابة المناعية الخلطية والخلوية في الأغنام الملقحة بلقاح البروسيلا المالطية Rev-1 *

**عفاف عبدالرحمن يوسف** و **اسعد خلف طلال** و **ومظفر نافع الصايغ**

فرع الطب الباطني والوقائي

كلية الطب البيطري

جامعة بغداد– العراق

فرع الصحة العامة البيطرية

كلية الطب البيطري

جامعة بغداد–العراق

**الخلاصة**

صممت هذه الدراسة لمعرفة تأثير استخدام الليفاميزول كمحفز مناعي في الاغنام الملقحة بلقاح البروسيلا المالطية Rev-1 . قسمت الاغنام والبالغ عددها (60) حيواناً بالتساوي إلى أربع مجاميع :-

*المجموعة الأولى (اللقاح)، حقنت بلقاح البر وسيلا المالطية Rev-1 بجرعة 1مل تحت الجلد يحتوي على $2\times10^{9}$ خلية حية .*المجموعة الثانية (اللقاح الليفاميزول) حقنت باللقاح بالطريقة نفسها فضلا عن تجريعها الليفاميزول عن طريق الفم بجرعة 10 ملغم/كغم ، قبل أسبوع من إعطاء اللقاح ومع اللقاح وبعد أسبوع من إعطاء اللقاح ، واستمر إعطاء الليفاميزول شهرياً لحين انتهاء التجربة .*المجموعة الثالثة(الليفاميزول) أعطيت الليفاميزول فقط عن طريق الفم بجرعة 10 ملغم/ كغم وبالأوقات نفسها التي جرعت بها المجموعة الثانية .*المجموعة الرابعة (السيطرة) تم حقنها (1مل) من المحلول الملحي الفسلجي (PBS) المعقم تحت الجلد . أجريت اختبارات المناعة الخلطية والخلوية قبل بدء التجربة وبعد 2 ،4 ،6 ، 8 ،10 ، 12 ، 14 أسبوعا

أظهرت الفحوصات السريرية ارتفاع درجات الحرارة في المجاميع الملقحة ، ولوحظ ان المجموعة الأولى سجلت أعلى المعدلات40.93 م° فيما اتخذت معدلات ترداد التنفس والنبض نفس مسار درجات الحرارة ولم يلاحظ اي تغيير في المجموعة الثالثة والرابعة.

حفز اللقاح المناعة الخلطية في المجاميع الملقحة فقط حيث أعطى الاختبار الأول (اختبارالروزبنكال RBT) نتائج موجبة طيلة مدة التجربة ، وباستخدام الاختبار الثاني(اختبارالتلازن ألدمي المنفعل الغير مباشر PHA) سجلت المجموعة الثانية للأغنام

* البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الثاني

ً1160.53 كمعدل للأجسام المضادة بفارق معنوي مع المجموعة الأولى بينما سجلت المجموعة الثالثة والرابعة نتائج سالبة في معدل عياريه الأجسام المضادة .

بينما أظهرت نتائج اختبارات المناعة الخلوية ان اختبارالحساسية الجلدي المتأخر أعطى نتائج موجبة في المجموعة الأولى والثانية وسجلت المجموعة الثانية معدلات أعلى من الأولى وبفارق معنوي ($P<0.05$) بينما كانت النتائج سالبة في المجموعة الثالثة والرابعة، اما الاختبار الزهرة E-Rosette فقدا ظهرت المجموعة الثانية ارتفاع نسبة الخلايا اللمفية الفعالة والكلية على باقي المجاميع بفارق معنوي حيث كانت وعلى التوالي 25.73% و29.76%، اما المجموعة الثالثة فقد سجلت اعلى معدلاتها في الخلايا الفعالة والكلية (22.63%,25.86%) وتلتها المجموعة الاولى ولم تظهر المجموعة الرابعة أي تغيير عن النسب الطبيعية.

لوحظت زيادة في تركيز بروتين مصل الدم الكلي في المجموعتين التي أعطيت الليفاميزول (الثانية والثالثة)، مقارنةً بالمجموعة الأولى والرابعة.

# Effect of of Levamisole as immunostimulatoron the humoral and cellular immune response in sheep vaccinated with *Brucella melitensis* Rev-1 vaccine

**Yousif, A, A** ; **Talal A.K** and **Al- saigh,M,N**
Dept. of preventive medicine
College of Vet. Med
Baghdad university –Iraq

Dept. of Public Health
Collage of Vet. Med.
Baghdad University -Iraq

**Summary**

This study was designed to determined the influence of levamisole administration as immunostimulator for sheep vaccinated with *Brucella melitensis* vaccine (Rev-1). The sixty sheep (males and females) were divided equally into four groups *The first group (vaccinated group ) the animals were vaccinated with Rev-1 vaccine at a dose of 1 ml s/c which contain 2 x $10^9$ viable bacteria *The second group ( vaccine and levamisole ), was vaccinated with Rev-1 as the same of the first group as well as levamisole was given orally at a dose of 10 mg / kg B.W a week before vaccination and with vaccination and a week after vaccination and then levamisole was given at monthly intervals up to the end of the experiment.* Third group (levamisole group) was given levamisole orally at a dose of 10 mg / kg B.W at the same regimen of the time of the second group.

*The fourth group kept as a control group which was given 1 ml of PBS s/c

The humeral and cellular immunity assessed on animals at 0 time ,2,4,6,8,10,12,14 weeks.The vaccinated animals showed a high temperature after vaccination in the Ist and 2nd groups, the highest rate value was recorded in the first group 40.93C. Same trends were noticed in respiratory and pulse rates. No changes were recorded in the third and fourth groups.

The vaccine stimulate humeral immunity ( first and second groups ). Rose Bengal Test gave a positive result in both vaccinated groups only. The second group revealed high means significant antibody titer 1160.53 than the first group, while the third and fourth groups showed a negative result in the antibody titer as detected by passive haemagglutination test (PHA).

While the cellular immunity showed the following results .Delayed type hypersensitivity test was positive in the vaccinated groups and the second

groupshowed significantly higher average in redness area and its thickness, than the first group,while in third and fourth groups the results were negative . The E-Rosette test in second group showed significantly high activated and total lymphocytes ratio compared with the other groups followed the second,first group and fourth group didn't show any increase than the normal ratio..

Serum total protein concentration was increased in the two groups which received the levamesol 2nd &3rd groups compared with 1st and 4th groups.

**المقدمة**

يعد داء البروسيلات (Brucellosis) من الامراض البكتيرية المشتركة الذي تسببه جراثيم البروسيلا في معظم دول العالم (1,2,3) , واهم اعراضه الاجهاض الذي يحدث غالباً في الاشهر الاخيرة من الحمل ، واحتباس المشيمة في الاناث والعقم الموقت اوالدائم في الذكور, ويعد من اكثر الامراض انتشارا واكثرها خطورة وله تاثيرات الاقتصادية بسبب فقدان الاجنة ونقص في كمية الحليب المنتج وتدني نوعيته فضلا عن المشاكل التناسلية الناجمة عن احتباس المشيمة والتهاب بطانة الرحم (4). وللمرض اهمية صحية اذ تنتقل البروسيلا من الحيوان الى الانسان اما بصورة مباشرة اوغير مباشرة عن طريق تناول الحليب ومنتجاته غير المبسترة (5)

ولاهمية المرض الاقتصادية والصحية استخدمت العديد من الدول برامج للسيطرة عليه في الحيوانات ومنها برنامج التلقيح ,وقد استخدمت انواع مختلفة من اللقاحات في بلدان العالم لتمنيع الأغنام ضد المرض ومنها لقاح *Brucella melitensis* strain Rev-1 وقد يعطي مناعة تستمر طول العمر الإنتاجي للنعاج (6) ، ولزيادة المناعة المتكونة في هذه الحيوانات فقد وجد ان استخدام المنشطات المناعية مع اللقاحات مثل الليفاميزول لها دور كبير في زيادة الاستجابة المناعية واعطاء المضيف القدرة على مقاومة الاصابة بالجراثيم لما لها من خواص مناعي .استخدم عقار الليفاميزول كمنشط مناعي فضلاً عن فعاليته كمضاد للديدان حيث يملك صفة التنظيم المناعي ، حيث يعطي الليفاميزول لتشجيع الجهاز المناعي على الاستجابة المناعية بصورة غير نوعية او غير محددة للمستضد وظهر انة يوفر نتائج جيدة عندما يعطى مع اللقاحات الفايروسية والبكتيرية ( 8,7 ). صممت هذه الدراسة لمعرفة تاثير الليفاميزول كمحفزمناعي على الاستجابة المناعية الخلطية والخلوية للاغنام الملقحة بلقاح البروسيلا المالطية (Rev-1) .

**المواد وطرائق العمل**

**1- اللقاح:**-استخدم لقاح *Brucella melitensis* strain Rev-1 والمنتج من شركة CZ Veterinaria,Spain. الاسبانية تم الحصول علية من الشركة العامة للبيطرة.

**2--الليفاميزول:**-استخدم في هذه الدراسة عقار الليفاميزول كمحفز مناعي

**3-مستضد البر وسيلا** (Brucella antigen):-حضر المستضد حسب طريقة (9 )، واستخدم في الاختبار الجلدي وفي اختبار فحص التلازن الدمى المنفعل (الغيرمباشر) (PHT).

**تصميم التجربة**

أجريت الدراسة على الأغنام (العواسي) حيث اختير 60 حيواناً من الإناث والذكور، وغذيت هذه الحيوانات

على الأعلاف الخضراء والأعلاف المركزة ، أجريت الفحوصات البكتيرية والطفيلية والمصلية عليها قبل البدء بالتجربة للتأكد من سلامتها من الأمراض. ثم قسمت إلى أربعة مجاميع .(كل مجموعة: 15 حيوان).

**المجموعة الأولى:**- (مجموعة اللقاح) حقن بلقاح Rev-1 بجرعة 1 مليحتوي على $2\times10^9$ خلية حية تحت الجلد.

**المجموعة الثانية:**- (مجموعة اللقاح والليفاميزول) حقنت بلقاح البروسيلا المالطية (Rev-1)بنفس الطريقةبالاضافة إلى إعطائها الليفاميزول بالتجريع عن طريق الفم بجرعة (10 ملغم/ كغم) قبل أسبوع من إعطاء اللقاح ومع اللقاح وبعد أسبوع من إعطاء اللقاح واستمر إعطاء الليفاميزول شهرياً لحين انتهاء التجربة .

**المجموعة الثالثة:**- (مجموعة الليفاميزول) أعطي الليفاميزول لها طريق الفم بجرعة 10 ملغم/كغم وبالوقت نفسه الذي أخذت فيه المجموعة الثانية الليفاميزول بثلاث جرع قبل أسبوع من بداية التجربة ومع بداية التجربة ، وبعد أسبوع من إعطاء المجاميع الأخرى اللقاح واستمر شهرياً حتى انتهاء التجربةً .

**المجموعة الرابعة** : مجموعة السيطرة عددها 15 حيوان تم حقنها 1مل من المحلول الملحي الفسلجي (PBS) المعقم تحت الجلد .

فحصت الحيوانات يومياً لملاحظة وتثبيت المتغيرات في الشهية والسلوك والتبول ، الإفرازات وغيرها ، وقيست درجات الحرارة ، ترداد التنفس ، النبض، قبل اللقاح وبعده ، واستمر بعد ذلك أسبوعيا .

جمعت عينات الدم من الوريد الو داجي بمقدار 10سم3 من الدم ( للحصول على المصل) من كل حيوان قبل إعطاء اللقاح بأسبوع وبعد 2 ،4 ،6 ،8 ،10 ،12 ،14 أسبوعا طوال مدة

الدارسة ، ووضع المصل في انابيب زجاجية وحفظ في درجة حرارة −20م° لحين اجراء اختبارات المناعة الخلطية وقياس البروتين الكلي ا:−

اولاً:− اختبار الروزبنكال (RBPT ): −اجري هذا الاختبار حسب طريقة, (10).

ثانياً:− اختبار التلازن الدمي المنفعل (الغيرمباشر):−اجري هذا الاختبار حسب طريقة(11) .

اما اختبارات المناعة الخلوية فاهمها :−

أ− اختبار الحساسية الجلدي المتأخر (Delyed type hypersensitivity testDTH) :−

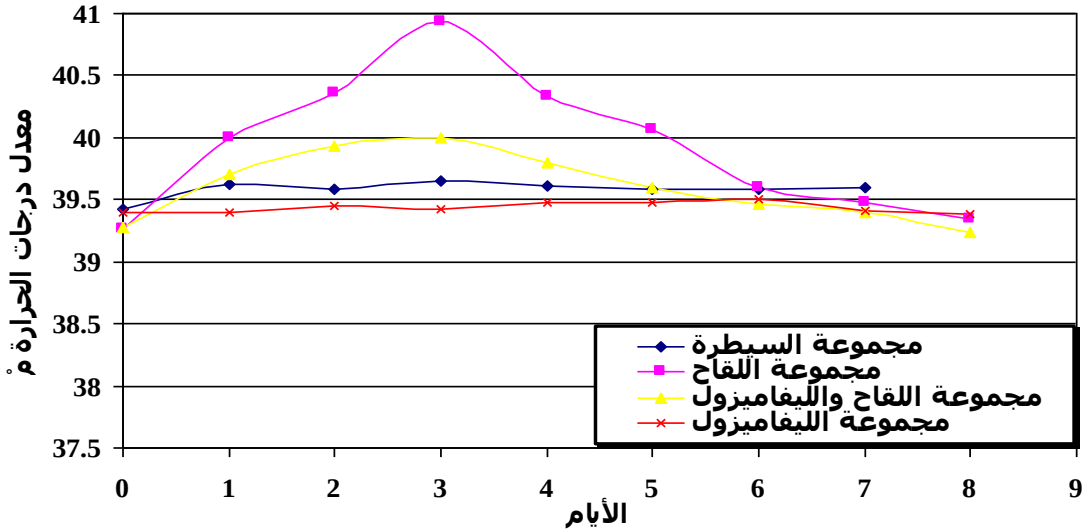
اجري هذا الاختبار على الأغنام حسب طريقة (12 )حيث اختيرت منطقة تحت الإبط ، وبعد تنظيف المنطقة وقياس سمك الجلد بوساطة المسطرة المعدنية المنزلقة (Vernia) حددت منطقتان فيها ، حقنت الأولى بالبروسلين بجرعة 0.1 مل بتركيز 200µg في الأدمة (Intradermal) ، والثانية حقنت بمحلول دارئ الفوسفات (PBS) كمنطقة سيطرة للمقارنة ،سجلت التغيرات الحاصلة بعد 24 و 48 ساعة من الحقن من خلال قياس قطر منطقة الاحمرار وقياس سمك الجلد قبل وبعد الحقن وقيست بوساطة المسطرة المعدنية المنزلقة .

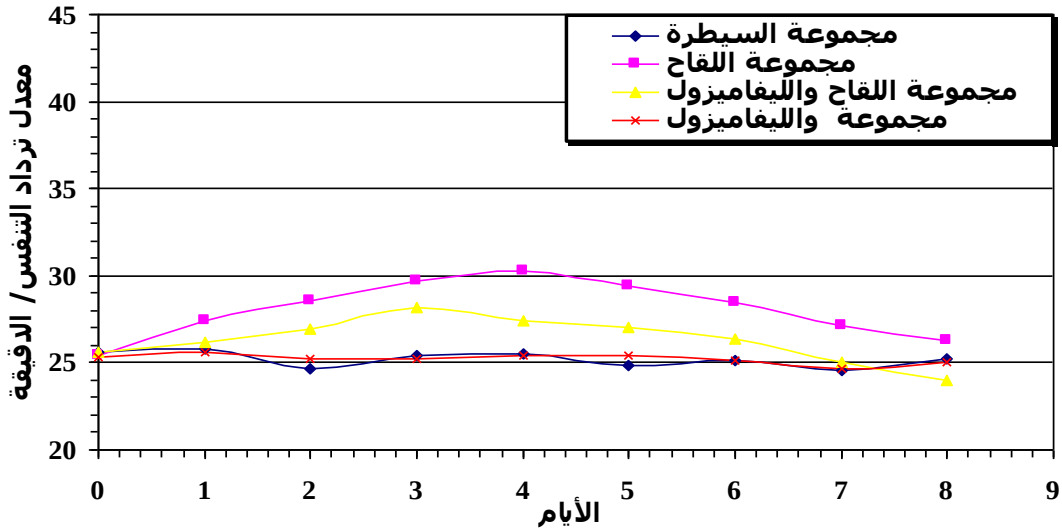
ب− اختبار الزهرة( E-Rosette test ):−اجري حسب الطريقة التي ذكره (13)

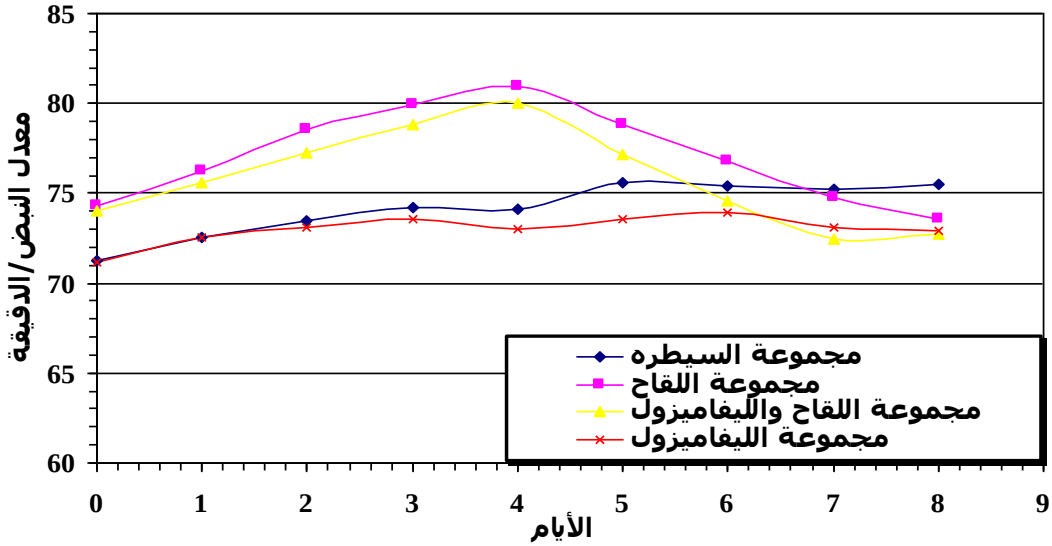
قياس البروتين الكلي:−و للكشف عن البروتين الكلي في مصل الدم استعملت طريقة (14 ).

## النتائج

الفحوصات السريرية:−لم تظهر الحيوانات أي عرض مرضي قبل البدء بالتجربة إما بعد بدءالتجربة ، فقد أظهرت الأغنام في المجموعة الثانية (اللقاح +الليفاميزول) والمجموعة الأولى(اللقاح) ارتفاع في درجة حرارة كنتيجة للتلقيح ، وكان اعلى معدل لها في اليوم الثالث حيث وصلت إلى 40.93 م° ، 40 م° اما في المجموعة الثالثة والسيطرة فقد بقيت درجات الحرارة بمعدلاتها الطبيعية ، (شكل1).




شكل (1): معدل درجات الحرارة والنبض والتنفس في الأغنام.

اظهرت النتائج ارتفاع معدلات ترداد التنفس في المجموعة الأولى ، والثانية بعد إعطاء اللقاح في حين بقيت المجموعة الثالثة(الليفاميزول) والسيطرة بمعدلاتها الطبيعية ، إحصائيا لوحظ وجود فروقات معنوية على مستوى$P<0.05$ بين المجموعة الأولى والثانية حيث سجلت المجموعة الأولى معدلات أعلى من المجموعة الثانية ، والمجاميع الأخرى. وقد لوحظ ارتفاع في معدلات النبض في المجموعة الأولى والثانية بعد التلقيح ولوحظ ان المجموعة الأولى سجلت فارقاً معنوياً ($P<0.05$) بينها وبين المجاميع الأخرى (شكل1)

**الاختبارات المناعية**

*نتائج اختبارالروزبنكال

أظهرت نتائج اختبارالروزبنكال نتائج سالبة للجميع قبل بدء بالتجربة وبعد اعطاء اللقاح باسبوعين اظهرت المجموعتين الاولى ، والثانية نتائج موجبة للاختبار ، اما المجموعتان الثالثة والسيطرة فكانتا سالبة لاختبار الروزبنكال .

*نتائج اختبار التلازن الدمي المنفعل(غير المباشر)

أظهرت مجاميع الأغنام الاولى والثانية ( مجموعة اللقاح والليفاميزول) ارتفاع في مستوى الاجسام المضادة ولمختلف المدد الزمنية حيث سجلت اعلى معيار للاجسام المضادة في المجموعة الثانية بعد 8 اسابيع بمعدل 1160.53. اما المجموعة الاولى فقد سجلت اعلى معدل في المعيار الحجمي للاجسام المضادة في الاسبوع الثامن حيث وصل الى 870.4 . احصائياً ظهر وجود فروقات معنوية من الاسبوع الثامن حتى نهاية التجربة على مستوى المعنوية $P<0.05$ حيث سجلت المجموعة الثانية اعلى معدل من المجموعة الاولى حتى نهاية التجربة. (جدول 1).

**جدول (1): المعيار الحجمي للاجسام المضادة المقاسة بفحص التلازن الدمي المنفعل للأغنام الملقحة بلقاح Rev-1 والمعاملة بالليفاميزول.**

| المجاميع / الاسابيع | الاولى اللقاح | الثانية اللقاح والليفاميزول | الثالثة الليفاميزول | الرابعه السيطرة |
|---|---|---|---|---|
| | الخطأ القياسي ± المعدل | الخطأ القياسي ± المعدل | الخطأ القياسي ± المعدل | الخطأ القياسي ± المعدل |
| 0 | -ve | -ve | -ve | -ve |
| 2 | 550.40±84.21a | 563.200±93.31a | -ve | -ve |
| 4 | 733.86±74.39a | 674.130±81.4a | -ve | -ve |
| 6 | 819.20±67.04a | 802.130±74.39a | -ve | -ve |
| 8 | 870.40±144.8b | 1160.53±127.0a | -ve | -ve |
| 10 | 699.73±121.02b | 1109.33±165.0a | -ve | -ve |
| 12 | 486.4±82.10b | 870.4±147.37a | -ve | -ve |
| 14 | 358.4±79.20b | 819.2±117.71a | -ve | -ve |

– الحروف المختلفة ضمن السطر الواحد تشير الى وجود فروقات معنوية على مستوى $P<0.05$ .

نتائج اختبار الزهرة(E.rosset test)

1–النسب المئوية للخلايا للمفاوية الفعالة نوع (T) في الاغنام

كانت معدلات نسبة الخلايا اللمفية الفعالة في المجاميع الاولى والثانية والثالثة والسيطرة في بداية التجربة على التوالي 10.7 و 10.46 و 10.23 و 10.16% ولم يلاحظ وجود فروقات معنوية بين المجاميع الأربعة ، ويلاحظ ان الاختلافات المعنوية ($P<0.05$) اصبحت واضحة عند الاسبوع السادس نتيجة الزيادة الحاصلة في نسبة الخلايا اللمفية الفعالة في المجاميع الاولى والثانية والثالثة مقارنة بالمجموعة الرابعة والتي لم تظهر أي زيادة عن النسب الطبيعية طيلة فترة الدراسة. (جدول 2).

**جدول (2) : النسب المئوية للخلايا اللمفية الفعالة نوع (T) المكونة للشكل الزهري في الأغنام**

| المجاميع الأسابيع | الاولى اللقاح | الثانية اللقاح والليفاميزول | الثالثة الليفاميزول | الرابعه السيطرة |
|---|---|---|---|---|
| | الخطأ القياسي ± المعدل | الخطأ القياسي ± المعدل | الخطأ القياسي ± المعدل | الخطأ القياسي ± المعدل |
| 0 | 10.7±0.44a | 10.46±0.46a | 10.23±0.46a | 10.16±0.41a |
| 2 | 12.83±0.54a | 16.56±0.77a | 12.2±0.54bc | 10.8±0.34c |
| 4 | 19.83±0.41b | 21.36±0.39a | 18.56±0.44c | 9.4±0.29d |
| 6 | 22.33±0.50b | 23.70±0.43a | 21.56±0.55b | 9.43±0.28c |
| 8 | 23.06±0.47b | 24.43±0.44a | 22.06±0.46b | 9.3±0.35c |
| 10 | 23.86±0.29b | 25.23±0.31a | 22.63±0.47c | 8.7±0.23d |
| 12 | 24.36±0.25b | 25.46±0.23a | 22.43±0.40c | 9.06±0.30d |
| 14 | 24.63±0.27b | 25.73±0.23a | 23.4±0.26c | 9.23±0.33d |

– الحروف المختلفة ضمن السطر الواحد تشير الى وجود فروقات معنوية على مستوى $P<0.05$ .

2–النسب المئوية للخلايا اللمفية الكلية نوع (T)في الاغنام Total-T- lymphocytes

اظهرت المجموعة الثانية زيادة في نسبة الخلايا اللمفية الكلية طيلة اسابيع التجربة حيث بلغ 29.766% في الاسبوع العاشر ، واستمر حتى نهاية التجربة . اما المجموعة الاولى فقد لوحظ ارتفاع في نسبة الخلايا اللمفية الكلية عند الاسبوع الثاني واستقر في نهاية التجربة 26.93%. اما المجموعة الثالثة فقد سجلت اعلى معدلاتها في الاسبوع العاشر 25.86% ، اما مجموعة السيطرة فلم يلاحظ وجود اي زيادة في نسبة الخلايا اللمفاوية طوال مدة الدراسة . احصائياً لوحظ وجود فروقات احصائية بين المجاميع الاربعه ($P<0.05$) (جدول 3).

**جدول (3): النسبة المئوية(%) للخلايا اللمفية الكلية نوع (T) المكونة للشكل الزهري في الأغنام**

| المجاميع الاسابيع | الاولى اللقاح | الثانية اللقاح والليفاميزول | الثالثة الليفاميزول | الرابعه السيطرة |
|---|---|---|---|---|
| | الخطأ القياسي ± المعدل | الخطأ القياسي ± المعدل | الخطأ القياسي ± المعدل | الخطأ القياسي ± المعدل |
| 0 | 12.66±0.34a | 11.83±0.44a | 12.76±0.36a | 12.2±0.43a |
| 2 | 16.2±0.51b | 20.4±0.68a | 15.66±0.55b | 12.93±0.33c |
| 4 | 23.06±0.54b | 24.36±0.33a | 21.73±0.51c | 11.4±0.29d |
| 6 | 26.23±0.47b | 27.7±0.64a | 24.53±0.48c | 11.8±0.23d |
| 8 | 25.93±0.55b | 28.5±0.45a | 25.8±0.49c | 11.3±0.35d |
| 10 | 26.36±0.16b | 29.76±0.32a | 25.86±0.49b | 10.86±0.23c |
| 12 | 26.43±0.21b | 29.3±0.31a | 25.1±0.56b | 10.9±0.28c |
| 14 | 26.93±0.21b | 29.53±0.38a | 24.86±0. 6c | 11.56±0.30d |

– الحروف المختلفة ضمن السطر الواحد تشير الى وجود فروقات معنوية على مستوى $P<0.05$

***نتائج اختبارالحساسية الجلدي للبروسلين في الاغنام**

بعد اجراء اختبارالحساسية الجلدي المتاخر على الاغنام ، بعد حقنها بمستضد البروسلين ومن خلال مراقبة التغيرات الحاصلة على الجلد في منطقة الحقن، وقياس سمك الجلد قبل وبعد الحقن حيث اظهرت النتائج وجود فروقات معنوية($P<0.05$) بين معدلات قطر الاحمرار وفرق سمك الجلد بين المجموعتين الثانية والاولى خلال مدة 24 ساعة واستمرت الفروقات الى 48 ساعة حيث لوحظ تفوق المجموعة الثانية على المجموعة الاولى (جدول 4).

**جدول (4): نتائج اختبار الحساسية الجلدي المتأخر في الاغنام**

| المجاميع | قطر منطقة الاحمرار (ملم) | | فرق سمك الجلد (ملم) | |
|---|---|---|---|---|
| | بعد 24 ساعة | بعد 48 ساعة | بعد 24 ساعة | بعد 48 ساعة |
| | الخطأ القياسي ± المعدل | الخطأ القياسي ± المعدل | الخطأ القياسي ± المعدل | الخطأ القياسي ± المعدل |
| **المجموعة الاولى (اللقاح)** | 8.733±0.45b | 6.933±0.33b | 5.933±0.33b | 4.4±0.30b |
| **المجموعة الثانية (اللقاح والليلفاميزول)** | 11.46±0.61a | 9.46±0.62c | 8.6±0.30a | 6.8±0.31a |
| **المجموعةالثالثة(الليفاميزول)** | -ve | -ve | -ve | -ve |
| **مجموعة السيطرة** | -ve | -ve | -ve | -ve |
| **PBS*** | - | - | - | - |

*حقن محلول داريء الفوسفات الملحي المعقم بالجرعة نفسها اسفل منطقة حقن المستضد .

**نتائج بروتين مصل الدم الكلي**

يوضح الجدول رقم (5) معدلات تركيز بروتين مصل الدم الكلي. حيث لوحظ اعلى معدل في تركيز بروتين مصل الدم الكلي في المجموعة الثانية عند الاسبوع الرابع حيث بلغ (8.64) ملغم /100سم3 ، اما المجموعة الثالثة كان اعلى معدل عند الاسبوع السادس . اما المجموعة الاولى حصلت بها زيادة طفيفة ولم تحصل زيادة في مجموعة السيطرة خلال اسابيع التجربة.وقد أظهرت الفحوصات الإحصائية وجود فروقات معنوية بمستوى ($P<0.05$) بين المجاميع الأربعة منذ الاسبوع الثاني وحتى نهاية التجربة .

**جدول (5) :نتائج قياس بروتينات مصل الدم الكلية(غم/ 100سم3) ± الخطأ القياسي**

| المجاميع الاسابيع | الاولى اللقاح | الثانية اللقاح والليفاميزول | الثالثة الليفاميزول | الرابعه السيطرة |
|---|---|---|---|---|
| | الخطأ القياسي ± المعدل | الخطأ القياسي ± المعدل | الخطأ القياسي ± المعدل | الخطأ القياسي ± المعدل |
| 0 | 6.15±0.07a | 6.22±0.05a | 6.14±0.05a | 6.09±0.05a |
| 2 | 6.67±0.06b | 7.90±0.05a | 6.64±0.05b | 6.32±0.04c |
| 4 | 6.90±0.09c | 8.64±0.06a | 7.16±0.10b | 6.26±0.06d |
| 6 | 6.64±0.08c | 8.04±0.04a | 7.70±0.09b | 6.24±0.03d |
| 8 | 6.56±0.07c | 8.00±0.49a | 7.20±0.07b | 6.34±0.01d |
| 10 | 6.47±0.05c | 8.02±0.03a | 7.25±0.08b | 6.38±0.05d |
| 12 | 6.49±0.04c | 7.82±0.05a | 7.30±0.08b | 6.20±0.03d |
| 14 | 6.45±0.05c | 7.74±0.04a | 7.26±0. 07b | 6.26±0.04d |

– الحروف المختلفة ضمن السطر الواحد تشير الى وجود فروقات معنوية على مستوى $P<0.05$

## المناقشة

### المعايير السريرية

يلاحظ من خلال النتائج حصول ارتفاع في معدل درجات الحرارة في المجموعتين الملقحة ، وهذه الحالة طبيعية تؤكد على الاستجابة المناعية ضد اللقاح ولوحظ ان معدلات درجات الحرارة في المجموعة التي اعطيت الليفاميزول مع اللقاح كانت اقل وعادت الى وضعها الطبيعي بمدة اقصر مقارنةً بالمجموعة التي اعطيت اللقاح لوحده ، وهذا ربما يعود الى ان الليفاميزول قد حفز الجهاز المناعي لرفع الاستجابة المناعية وعملت على حماية الجسم من عوامل الاجهاد ما اكده (15) .

ان الارتفاع في درجات حرارة الجسم في الاغنام الملحقة بلقاح الـRev.1 مقارنتاً بالمجموعة الثالثة ( الليفاميزول ) والمجموعة الرابعة ( السيطرة ) ، متفقة مع ما ذكره البره (16). ويمكن تفسير ذلك على ان جراثيم البروسيلا هي سالبة لصبغة كرام ($G^-$) ممتلكة الذيفان الداخلي (Endotoxin) المحدثة للحمى لذلك فأن تأثيرها في مراكز الحرارة عالي الشدة ، وقد يعزى الارتفاع ايضاً الى تحفيز الخلايا الالتهابية والبلاعم الكبيرة وخلايا العدلات التي تنتج مسخنات داخلية (Endogens pyrogen) مسؤولة بصورة مباشرة على انتاج الحمى بتأثيرها في مراكز تنظيم الحرارة تحت المهاد Hypothalmus (17) .واتخذ ارتفاع معدلات تردات التنفس ( مرة /دقيقة ) ومعدل اعداد النبض ( نبضة / دقيقة ) نفس مسار ارتفاع درجة الحرارة .

**الاختبارات المناعية:**-تضمنت الدراسة استخدام نوعين من الاختبارات للكشف عن المناعة الخلطية فقد استخدم اختبار الروزبنكال على مصول الاغنام الملقحة حيث اظهرت جميع الحيوانات نتائج موجبة لهذا الاختبار طوال مدة التجربة . ويعزى سبب هذه النتيجة الموجبة في جميع الحيوانات الملقحة لان هذه الدراسة اشتملت على حيوانات تعيش في حقل واحد فقط وجميعها ممنعة بلقاح الـRev-1 وبنفس الجرعة والوقت ، جاءت النتائج متفقة مع العديد من الباحثين (18,19, 20 ) كما واستخدام اختبار التلازن الدمي المنفعل (PHA) لقياس مستوى الاجسام المضادة في مصول الاغنام ، ويعد هذا الفحص من الاختبارات المصلية الحساسة التي تجرى على نطاق واسع لقياس مستوى الاجسام المضادة لانواع عديدة من المستضدات ، وقد استخدمه كثير من الباحثين لقياس معيارية الاجسام المضادة (22,21) .

أكدت هذه الدراسة أن مادة الليفاميزول ادت الى رفع مستوى الاجسام المضادة المتكونة في دم حيوانات المجموعة الثانية باستخدام اختبار التلازن الدمي المنفعل ، وأصبح التفوق واضحاً على مستوى الاجسام المضادة في المجموعة الاولى من الاسبوع الثامن حتى نهاية مدة التجربة ولوحظ وجود فروقات معنوية خلال هذه المدة بين المجموعة الثالثة عن تلك المحقونة باللقاح فقط وتتفق نتائج هذه الدراسة مع ماتوصل اليه (23)الذي وجد ان اعطاء مادة الليفاميزول مع لقاح الباستريلا يرفع من مستوى الاجسام المضادة ، وتتفق هذه الدراسة مع (22) التي وجدت أن إعطاء المنشطات المناعية مع اللقاح ادى الى زيادة معيارية الاجسام المضادة بفحص التلازن الدمي المنفعل .

وقد وجد إن هناك تأثير لمادة الليفاميزول على نسبة الخلايا اللمفاوية نوع T الفعالة والكلية مقاسه باختبار الزهرة ، حيث لوحظ ارتفاع اكبر للنسبة المئوية لخلايا T الفعالة والكلية في المجموعة التي اعطيت الليفاميزول مع اللقاح من المجموعة التي اعطيت الليفاميزول فقط حيث كانت اقل ، وجاءت هذه النتائج متفقة مع (24) ، ويعود سبب هذه الزيادة في المجموعة الثانية الى تأثير اللقاح وحصول استجابة مناعية خلوية ,اما الليفاميزول فكان له دور كبير في زيادة نشاط الخلايا اللمفية ، حيث لوحظ أن إعطاء الليفاميزول سبب في تحفيز الخلايا اللمفاوية (T) واتفق هذا مع(25) الذي لاحظ أن اعطاء الليفاميزول قد يؤدي الى تحفيز الخلايا اللمفاوية نوع T وزيادة فعالية المدورات اللمفية Lymphokines ، وانتاج الانترفيزون ولاسيما نوع كاما (Gamma Interferon -y )الذي يؤدي الى زيادة فعالية الخلايا البلعمية ويمكن ان يحفز الخلايا B على انتاج الاضداد المناعية

في حين استخدم اختبار الحساسية الجلدي المتأخر كأختبار لكشف عن المناعة الخلوية في الاغنام الملقحة والمعاملة بالمنشط المناعي ، اظهرت هذه الحيوانات استجابة مناعية بعد

حقن المستضد في ادمة الجلد في منطقة تحت الابط بانها اعطيت تفاعلاً جلدياً متميزاً من حيث الزيادة في فرق سمك الجلد وقطر منطقة الاحمرار ، وهذا يتفق مع (9,26,27 ).

**البروتين الكلي**

ان التغيرات الحاصلة في مستوى بروتين مصل الدم الكلي تعتمد على الحالة الفسلجية او الى بعض الحالات المرضية ، ويمكن ان يفسر اعتماداً على الحالة الغذائية للحيوان كنتيجة لزيادة الكوبيولنات المناعية بسبب التحفيز المناعي (28). تشير النتائج الى ارتفاع مستوى البروتين الكلي في المجاميع المعاملة مع اللقاح او بدونه وكذلك في مجموعة اللقاح بالمقارنة مع مجموعة السيطرة اتفقت النتائج مع ذكره(29 ) من ارتفاع مستوى البروتين في الحيوانات بعد التلقيح التي سماها بروتينات الخمج الحاد ومنها مجموعة الالفاكلوبيوبين (αglobulins) – من الفايبرنيوجين (Fibrinogen) والهايباتوكلوبين (Haptoglobuin) والكيرلوبلازمين (Caeruloplasmin)نتيجة زيادة تصنيع هذه البروتينات في الكبد اضافة الى الكوبيولين والالبومين.

ان تأثير الليفاميزول على مستوى البروتين الكلي ياتي من خلال تاثيره الايجابي على الصحة العامة للحيوان, بالاضافة لعمله مضاداً للديدان فان الليفاميزول يعد احد المواد المنشطة مناعياً (8) نلاحظ ان هذه الزيادة فيه قد تتناسب مع الزيادة بمعيار الاجسام المضادة ووزن الجسم وبصورة عامة تعطى هذه المواد لتشجيع الجهاز المناعي على الاستجابة بصورة غير نوعية ، او غير محددة للمستضد وظهر انها توفر نتائج جيدة في علاج الامراض المزمنة والاصابات التي تحدث تثبيط مناعي (7).

**المصادر**


**1**-Al- Talafhan AH, Lafi SQ , Al-Tarazi X . (2003) Epidemiology of ovine Brucellosis in Awassi sheep in Northern Jordan . Prev . Vet . Med. (4) 297-306 .

2-Al-Ani F. K. , El-Qaderi S. and Al-Darraji Am. (2004) Human and animal brucellosis in Jordan between 1996 and 1998 a study . Rev . Sci. Tech. (3) PP.831-840.

3-Al-Azzi , S . A. ; Al-Bassam , L.S. ; and Al-Delami , A. K. (1985) . Astudy on Ovine Brucellosis in Baghdad . Iraqi .J . Vet . Med. 9:19-27.

4-Garrido,F.; Duran,M.; MacMillan,A.; Minas,A.; Nicoletti,P. and Vechi, G. (2001). Brucellosis in sheep and goats ( *Br. Melitensis*). European commission, Report of Scientific committee on animal health and animal welfare.

5- Shareef , J. M. (2006) A review of serological Investigations of Brucellosis Among Farm Animals and Humans in Northern provinces of Iraq (1974-2004) . Journal of veterinary Medicine series (1) PP.38-40.

6-Cornille,Y.(1995). The Rev-1 vaccination plane for sheep in the province-Alpes-Cote D' Azur (PACA) area pre request for successful eradication of *Brucella melitensis*, FAO/WHO/OIE round table on the use of Rev-1 vaccine in small ruminants and cattle. CNEVA, Alfort, 1995, PP: 27-36.

7-Demicrt F.; ziya ,B.; murat , K. ; yavuz , C. and Lkay , K. (2005) . Immunomodulatory effects of HBs Ag vaccine and Levamisole in chronic hepatitis B and hepatitis B carrier children . Turk . J . Gastroenterol . 16(4) : 188-193.

8-Brian,K. A.(2000). Levamisol regulate cytokines production. Research archives 14 (36) : 45 -50.

9-Bercovich,Z.;Eger,A.;Dekker,T.and Haagsma,J. (1995). Production of *Brucella* allergens and evaluation of their biological activity in a Guinea pigs Bio assay.J. Vet. Med. B 42:19-27.

10-Morgan,W.J. (1967). The serological diagnosis of bovine brucellosis.Vet.Rec. 80:612-620.

11-Boyden,S.V.(1951). Fixation of bacterial products by erythrocytes treated with tannic acid and subsequent heamagglutination by anti-protein sera. J.Exp .Med.,93-107.

12-Koller , L. D. (1982) . Chemical indaced immunodulation . J. Am . Vet . Med. Ass. 181:1102-1106 .

13-Grewal,A.S; Rouse,B.T;And Babiuk,L.A (1976) "Erythrocyte rosettes – Amarker for bovine T cells" . Can. j. com. Med. Vol. 40,no. 3, p 298-305

14-Henry,R.J. ; Carnnon,D.C. and Winkelman,J.W. (1974) Clinical chemistry, principles and techniques 2nd ed. Harper and Row.

15- Haden , J. W (1994) . T. cell adjuvant . J. Immunopharmacol . (16)PP.705-710.

16- البره ، عزمي محمد ( 1989) . تقويم حقلي ومصلي للقاحي البروسيلا المالطية المستودة والمحضر محلياً لمرض الاجهاض الساري في الاغنام والمعز في العراق . رسالة ماجستير مقدمة الى كلية الطب البيطري – جامعة بغداد .

17- Juma , K.H. ; Al- Kass , J. E and Injidi , M. H. (1982) A note on Studies on heat to lerance in Hungarian and Awassi rams . Iraqi Journal of veterinary medicine 6,PP.92-94.

18- Salem , A. A. ; AL-Khayyat , A . A. ; and Aziz , T. (2004) . Studies on Brucellosis of goat in Baghdad , Iraq . Iraq.J.Vet. Med . 1(1):71-87.

19-Hadad ,J . J. and Jamalludeen , N . M. A. (1992) . The prevalence of Bracellosis in Ninerah province , Iraq.J. of ret . sci . 5(2) : 159 -164.

20-صالح، حارث محمد سليم(1999). التقييم المناعي للبروسيلينات المنتجة محلياً في الاغنام المصابه بالبروسيلا والملقحه بلقاح Rev-1 رساله ماجستير كليه الطب البيطري / جامعه بغداد

21-الخياط ، عالية ابراهيم (1981) الاستجابة المناعية ضد بعض المكونات الاستضدادية لجرثومة *Brucella melatensis* كلية الطب البيطري – جامعة بغداد .

22–الكرخي ، راسمة مجيد حميد (2002) ، تأثير فيتامين (E) والسلنيوم على تمنيع الاغنام ضد التسمم المعوي . رسالة ماجستير – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد .

23–فعل، طارق جعفر (1985). دراسة تاثير التترامیزول على الاستجابة المناعية لجراثيم *Pasteurella mutocida* . رسالة ماجستير كلية الطب البيطري– جامعة بغداد .

24– الفتلي ,فيصل سامي (1997) . عزل العامل الناقل ودراسة المناعة الخلوية ضد جراثيم البروسيلا المالطية في خنازير غينيا رسالة ماجستير – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد .

25-Salimonu , L. S. (1986) . T. Lymphocyte number and serum E Rosette inhibitory Substance. Jclinc. patho . 39 (2) PP. 231- 232

26–حمزة ، اسيل محمد (2002) . دراسة مقارنة لكفاءة البروسلينات المحضرة محلياً في الكشف عن مرض البروسيلوسيز – رسالة ماجستير . امراض مشتركة – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد .

27–الزبيدي ، ابراهيم عبد الحسين (2007) . تحضير وتجربة مستضد مستخلص من بعض عتر البروسيلا اللقاحية ، رسالة دكتوراه كلية الطب البيطري – جامعة بغداد .

28- Coles,E.H. (1986). Veterinary Clinical pathology. 4th ed. Sanders Co. Philadelphia.

29- Bellanti , J. A. (1985) . Immunology III. 3rd (ed). W.B sunders comp. , USA.