دراسة أستخدام مسحوق ورق الزعترلتقليل التثبيط المناعي بسموم الافلا في دجاج اللحم

حاتم مجيد منهه النعيمي و نوال صالح جعفر و حسيبة عباس عمران

فرع الامراض و الدواجن – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد– بغداد – العراق

الخلاصة

أجريت الدراسة لمعرفة جدوى اضافة مسحوق ورق الزعتر الى العليقة الملوثة بسموم الافلا لتقليل تأثير هذه السموم على الاستجابة المناعية للقاح نيوكاسل في دجاج اللحم. حيث تكونت هذه الدراسة من ثلاثة مجاميع. المجموعة الاولى تم اعطائها علف خالي من التلوث بسموم الافلا، اما المجموعة الثانية فاعطيت علف ملوث بسموم الافلا وبدون اي معاملة، في حين اعطيت المجموعة الثالثة علف ملوث بسموم الافلا ممزوجاً مع مسحوق ورق الزعتر بنسبة 2%.

كل المجاميع لقحت لقاحين ضد مرض النيوكاسل ، الاول بعمر عشرة يوم و الثاني بعمر عشرين يوم. وتم قياس الاستجابة المناعية الخلطية باعتماد اختبار الاليزا باعمار 6 و 19 و 31 يوم واجري التحدي لكل المجاميع بعمر 32 يوم بعترة نيوكاسل حقلية ضاريه (Z-2003).

وبعد دراسة النتائج لوحظ ان المجموعة الاولى صاحبة اعلى معدل للاضداد حيث كانت 249,3±3239 بعمر 19 يوم و 845,3±10168,6 بعمر 31يوم وبمستوى معنوية 0,01وأعلى نسبة حماية ضد التحدي100% في حين كانت المجموعة الثانية صاحبة ادنى معدل للاضداد273±2662,2 بعمر 19 يوم و786,9±5712,5 بعمر 31يوم وبمستوى معنوية 0,01 وادنى نسبة حماية ضد التحدي بعمر 31يوم وبنسبة 66,67% اما المجموعة الثالثة فكانت معدلاتها ونسبة حمايتها ضد التحدي اقل من المجموعة الاولى واعلى من الثانية حيث كانت معدلاتها 542,5±3060 بعمر 19 يوم و44±8564 بعمر 31 يوم وكانت نسبة الحماية ضد التحدي80% بعمر 32 يوم . مما يشير الى دور سموم الافلا في المجموعة الثانية في تقليل الاستجابة المناعية. ودور ورق الزعتر في المجموعة الثالثة للحد من تأثير سموم الافلا في الاستجابة المناعية للقاح مرض النيوكاسل.

Study of Using *Thymbra spicata* leaves to reduce the toxic immunosuppresive effect of aflatoxin in broilers

Hatem M. M. Al-Naemey, Nwal S. Ja`afar and Hassiba A. Omran

Dept.of poultry diseases and Pathology –college of Vet. Med- Baghdad University-Baghdad-iraq

Summary

The present study performed to evaluate the impact of addition of *Thymbra spicata* leaves powder of aflatoxin contaminated ration in reduction of the aflatoxin immuno suppressive effect in the immune response induced by Newcastle disease vaccine in broilers.

The study conducted in three groups, The first group fed aflatoxin free ration, second group fed aflatoxin contaminated ration without any treatment, while the third group fed aflatoxin contaminated ration supplemented of 2% *Thymbra spicata* leaves powder.

All chick groups were vaccinated twice with Newcastle disease vaccine (NDV) at 10 and 20 days of age. ELIZA test was carried out to estimate the humeral immune response at 6, 19 and 31 days of age. Infection challeng were done at day 32 of age with velogenic ND strain (Z-2003).

The results showed that the first group has high significante antibodies titer reach to 3239±249.3 at 19days of age and 10186+845.3 at 31 days of age with significant level 0.01 and high protection ratio against challenge (100%)at 32 days of age, while the second group has the low antibodies titer reach to 2622.6±27.3 at 19 days of age and 5712.5±786.9at 31daysof age and low protection ratio against challenge(66.67), the third group's antibodies titer and protection ratio lower than first group and higher than second group ,the titers are 3060±542.5 at 19 days of age and 5712.5±786.9 at31 days of age while the protection ratio against challenge is 80% at 32 days of age .

The results showed the immuno suppressive effect of aflatoxin as in second group and the role of *Thymbra spicata* leaves powder in reduction of these effect.

المقدمة

ازدياد مشاكل الاصابات الفطرية والتسمم الفطري سبب الكثير من الخسائر الاقتصادية للدواجن لما لها من تأثيرات عديدة على الطير سواء تأثيره المباشر على صحة الطير ونسبة الهلاكات و العلامات السريرية او تأثيره على اجهزة الجسم كالجهاز المناعي واحداثه للاثباط المناعي مما يقلل من كفاءة هذا الجهاز ويعرقل تكون استجابة مناعية جيدة عند التلقيح وبالتالي يقلل من كفائة التلقيح ويكون الطير اكثر استعداداً للاصابة(1).

كل هذه الامور دفعت المربين الى استخدام الادوية المضاد للفطريات مع العلف للحد من خطورة الاصابات الفطرية الا ان هذه الادوية تبين ومن خلال(2) لها تأثير سلبي على الاستجابة المناعية للقاح النيوكاسل عند اعطائها بالجرعة العادية أو المضاعفة مما حدا بنا في هذه الدراسة الى تجربة احد المواد التي لها تأثير مثبط لنمو الفطريات وقليلة الضرر على الجسم وهذه المادة هي مسحوق ورق الزعتر *Thymbra spicata*(3) حيث استخدمت بعض الدراسات المستخلص الزيتي لاوراق الزعتر في علاج مرض القوباء الحلقية في الابقار واظهرت نتائج جيدة(4). وفي هذه الدراسة سوف يتم اضافة مسحوق ورق الزعتر الى العليقة الملوثة بسموم الافلا الفطرية قبل استخدامها في التعليف للدواجن ومعرفة مدى جدوى هذه الاضافة في الحد من تأثير سموم الافلا على الاستجابة المناعية للقاح نيوكاسل في الدجاج.

المواد وطرائق العمل

تضمنت الدراسة ثلاثة مجاميع من أفراخ دجاج اللحم نوع هابرد عمر يوم واحد كل مجموعة مكونة من 25 فرخ وربيت كل مجموعة بصورة مستقلة عن المجاميع الاخرى وعرضت كل المجاميع إلى نفس ظروف التربيه والادارة حيث ربيت في قاعات متماثلة المساحه وأعطيت نفس برنامج الاضاءه والتهوية ودرجات الحراره وظروف التربيه الاخرى وعوملت كما يأتي:-

المجموعة الاولى غذيت على عليقة خالية من التلوث بسموم الافلا الفطرية وأعتبرت مجموعة سيطرة. أما المجموعتان الثانية والثالثة فغذيت على عليقة ملوثة بسموم الافلا وبتركيز 26 جزء من المليون. المجموعة الثالثة تم إضافة مسحوق ورق الزعتر إلى العليقة وبتركيز 2% أما المجموعة الثانية فلم يتم إضافة أي مادة إلى عليقتها الملوثة .تم قياس تركيز سم الافلا بالعلف باستخدام اختبار الاليزا (Enzym linked immuno sorbent assay).

لقحت جميع المجاميع بنفس البرنامج اللقاحي حيث تم التلقيح ضد مرض النيوكاسل مرتين (الاولى بعمر 10 يوم وبعترة B_1 والثانية بعمر 20 يوماً وبعترة Lasota) وعرضت 15 فرخ من كل مجموعة إلى التحدي بعترة نيوكاسل الحقلية الضارية Z-2003 تم الحصول عليها من فرع الامراض والدواجن والمعزوله من قبل د.عبد الاميرزاهد وبجرعة $10^{7.2}EID_{50}$ بعمر 32 يوماً. كما تم جمع الدم من القلب وعزل المصل باستخدام جهاز الطرد المركزي بعمر 6 يوم لقياس المناعة الامية وبعمر 19 يوم لقياس المناعة المتكونة من اللقاح الاول وبعمر 31 يوم لقياس المناعة المتكونة من اللقاحين. وتم اعتماد اختبار الاليزا لغرض قياس معيار الاضداد الناتجة من الاستجابة المناعية. كما ولقحت جميع الافراخ لقاحين ضد مرض التهاب جراب فابريشيا المعدي(Infectious bursal disease) الاول بعمر 7 يوم والثاني بعمر 14 يوم كلاهما من نوع D78 كأجراء وقائي للحماية من الاصابة الحقلية. جميع لقاحات الدراسة كانت من إنتاج شركة intervet الهولندية. تم عمل التحليل الاحصائي للنتائج باستخدام فحص ANOVA.

النتائج

اظهرت نتائج اختبار الاليزا لمجاميع الدراسة وجود فروقات معنوية في معيار الاضداد ضد مرض نيوكاسل بين المجاميع (الجدول 1)، حيث لوحظ بعمر 19 يوم أن المجموعة الاولى كانت صاحبة أعلى المعدلات وبفرق معنوي مهم ($P<0.01$) عن بقية المجاميع تلتها المجموعة الثالثة والتي كانت اعلى من المجموعة الثانية وبفرق معنوي مهم ($P<0.01$) وكانت ادناها المجموعة الثانية، بعمر 31 يوم كانت المعدلات اكبر والفروقات بين المجاميع اكثر وضوحاً واستمرت المجموعة الاولى صاحبة اعلى معدل وبفرق معنوي($P<0.01$) عن المجموعتين الثانية والثالثة تلتها المجموعة الثالثة وأدناه المجموعة الثانية.

جدول (1): نتائج اختبار الاليزا لمعدلات اضداد مجاميع الدراسة

المجاميع / العمر (يوم)	**1**	**2**	**3**
19	c 3239 ± 249.3	a 2622.6 ± 273.9	b 3060 ± 542.5
31	c 10186.6 ± 845.3	a 5712.5 ± 786.9	b 8564.6 ± 440

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

* علماً ان المناعمة الامية كانت 2460

الجدول (جدول2) يوضح نتيجة التحدي لكل المجاميع بعمر 32 يوم بعترة نيوكاسل حقلية ضارية ونتيجة التحدي توضحت من خلال عدد الهلاكات والنسبة المئوية للحماية ضد التحدي والتي تمثل عدد الهلاكات إلى العدد الكلي للدجاج المعرض للتحدي حيث أظهرت المجموعة الاولى عدم وجود أي هلاكات بعد التحدي فكانت نسبة الحماية 100%.

أما المجموعة الثانية فكانت صاحبة اكبر عدد من الهلاكات وبلغ خمسة هلاكات من الخمسة عشر طير المعرضة للتحدي وبنسبة حماية تبلغ 66.67%. أما المجموعة الثالثة فكان عدد الهلاكات اعلى من المجموعة الاولى واقل من الثانية حيث كان عدد الهلاكات اثنان فقط وكانت نسبة الحماية ضد التحدي أعلى منها في المجموعة الثانية وأقل منها في المجموعة الاولى فكانت 80%.

جدول (2): عدد الهلاكات والنسبة المئوية للحماية بعد التحدي

المجاميع	عدد الهلاكات	نسبة الحماية
1	0/15	100
2	5/15	66.67
3	2/15	80

المناقشة

اهتمت هذه الدراسة في الحد من تأثيرات السموم الفطرية على مناعة الطير لما لهذه السموم من تأثير تثبيطي على الجهاز المناعي للدواجن مؤدياً إلى عرقلة الاستجابة المناعية وعدم حصول المناعة المرجوة من البرنامج اللقاحي(5) .

تناولت هذه الدراسة الاستفادة من ورق الزعتر كمضاد للفطريات حيث تبين ذلك في بعض الدراسات(4) وتم دراسة هذه التأثيرات على الاستجابة المناعية للقاح مرض نيوكاسل كون هذا المرض أحد أهم الامرض التي تصيب الدواجن ومسبباً خسائر اقتصادية مهمة(6) وتعد عملية التلقيح والحصول على مناعة جيدة من أهم طرائق السيطرة عليه(7).

تم اعتماد اختيار الاليزا كمقياس لمعيار الاضداد في امصال الطيور التي تضمنتها الدراسة والاستغناء عن بقية الاختيارات التي تقيس المناعة الخلطية لما لهذا الاختيار من دقة واعطاءه لنتائج معبرة بصورة وافية عن المناعة الخلطية(8).

وعند مراقبة نتائج الدراسة المتضمنة اختيار الاليزا وعدد الهلاكات والنسبة المئوية للحماية ضد التحدي لوحظ أن المجموعة الثانية والتي تناولت عليقة ملوثة بسموم الافلا وبدون أي معاملة اخرى كانت صاحبة ادنى النتائج إذ اظهرت اوطأ معيار للاضداد بكلا العمرين 19 و 31 يوماً وأقل نسبة حماية بعد التحدي. وتأتي هذه النتائج من التأثير السلبي لسموم الافلا الفطرية على الجهاز المناعي للطير(9) والتي تؤدي إلى تلف وتنخر واضح في الخلايا اللمفية الموجودة في الجريبات اللمفاوية في جراب فابريشيا(10) وهو العنصر الاساسي في الجهاز المناعي المسئول عن الاستجابة المناعية الخلطية في الدجاج(11) وبالتالي تتداخل هذه السموم في الاستجابة المناعية للقاح وتعرقل تكون استجابة مناعية جيدة بعد عملية التلقيح(12).

كما ولاحظ(13) أن الطيور المعرضة لهذه السموم تعاني من نقص واضح في بروتينات الدم وخصوصاً الكلوبيولين وهو من أهم البروتينات المسئولة عن المناعة الخلطية ويقلل من البروتين اللازم لتكوين الاضداد مما يعيق من توفر استجابة مناعية خلطية جيدة. المجموعة الثالثة والتي اعطيت مسحوق ورق الزعتر مع العليقة وبنسبة 2% كان فيها تأثير سموم الافلا الفطرية على الاستجابة المناعية أقل إذ اظهرت معدلات اضداد اعلى من المجموعة الثانية ونسبة حماية ضد التحدي اعلى وعدد هلاكات أقل ويأتي هذا الارتفاع بالمستوى المناعي نتيجة إضافة مسحوق ورق الزعتر إلى العليقة والذي ساهم في تقليل تأثير سموم الافلا الفطرية على الجهاز المناعي للطير إذ أظهرت العديد من الدراسات ان لمكونات ورق الزعتر تأثير مضاد للفطريات ففي الدراسة التي اجراها(14) لاحظ ان اضافة بعض المواد والتي من ضمنها مسحوق نبات الزعتر إلى الوسط الزرعي يؤخرنمو فطر *Aspergillus parasiticus* وهو من الفطريات المنتجة لسموم الافلا[15] وهذا التأخير في النمو يعتمد على تركيز المسحوق في الوسط الزرعي إذ لاحظ إن اضافة المسحوق بتركيز 0.8% و 1% اخر نمو الفطر لمدة 3.2 يوم في حين ان اضافته بتركيز 2% اخر نمو الفطر لمدة 13 يوماً. وفي الدراسة التي اجريت من قبل(16) والذي استخدم مسحوق ورق الزعتر بالاضافة الى مواد اخرى وجد أن اضافة هذا المسحوق يحدث تثبيط لنمو الفطر *Aspergillus flavus* وهي أيضاً من الفطريات المنتجة لسموم الافلا. وتأتي هذه الفعالية لورق الزعتر من احتواءه على بعض الزيوت التي لها فعالية ضد الاصابة الفطرية وخصوصاً زيتي Carvacrol و Thymol(16) حيث وجد ان نسبة الثايمول في ورق الزعتر تصل إلى 2.76%(17) كما وان لمكونات ورق الزعتر خواص سمية ذات تأثير تثبيطي على نمو الاحياء المجهريه من خلال ارتباطه بالمواقع الفعالة للانزيمات الخلوية المهمه لنمو الاحياء المجهريه(18) إن وجود هذه المكونات في ورق الزعتر المضاف إلى العليقة ساهم في الحد من نمو الفطريات الموجود في العليقة وبالتالي الحد

من انتاج السموم الفطرية التي تعرقل الاستجابة المناعية مما يساعد في رفع الاستجابة المناعية في هذه المجموعة عنها في المجموعة الثانية.

أما المجموعة الاولى فكانت صاحبة اعلى المعدلات بين المجاميع لخلو عليقة هذه المجموعة من السموم الفطرية التي تعرقل الاستجابة المناعية وعوملت بنفس البرنامج اللقاحي للمجاميع الاخر الذي وفر حماية جيدة في هذة المجموعة وبالتالي كانت معدلاتها موافقة للمعدلات التي تنتج من استخدام برنامج لقاحي مماثل(18).

المصادر

1.Dohms, J. K. (1991). Mechanism of immunosuppresion, Veterinary Immuno pathology. 30 (1): 19-30.

2. الهاشمي، لهيب مجيد. (2000). تأثير استخدام المضادات الفطرية على المناعة ضد مرض نيوكاسل في دجاج اللحم. رسالة دبلوم/ كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد.

3.Sasaki, K.; Wada, K; Tanaka, y.; Yoshimura, T.; Matuoka, K., Anno, T. (2005). Thyme (Thymus vulgaris L.) leaves and its constituents increase the activities of xenobiotic-metabolizing enzymes in mouse liver. J. Med. Food. 8 (2): 184-189.

4. نجم، جنان محمود خلف. (2003). القوباء الحلقية "دراسات وبائية وعلاجية. رسالة دكتواره/ كلية الطب البيطري / جامعة بغداد.

5. نوار، مصطفى و الناطور رشاد. (1989). الافلاتوكسين و المايكوتوكسينات: في المايكوتوكسينات و التسمم المايكوتوكسيني في الانسان و الحيوان. الجزء الاول. الطبعة الاولى. 45–49.

6.Alexander, D. J. (2003). Newcastle disease in : Disease of poultry. 11th ed. Edited by Y. W. Saif, H. J. Barnes, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. MCs Douglad and D. E. Snayne. PP. 63-81.

7.Regnolds, D. L., Maraqa, A. D. (2000). Protective immunity Againest Newcastle disease. The role of antibodies specific to Newcastle disease viruse poly-peptides. Avi. Dis. 44 ;138-144.

8.Tabid, M. H.; Makkawi, A.; Mahasin, E. and Ali, A. S. (2004). Comparative evaluation of the heamagglutination inhibition test and enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies against Newcastle disease vaccine in broiler chicks. International journal of poultry science. 3 (10): 668-670.

9.Celik, S.; Erdogan, Z.; Erdogan, S., and Bol, R. (2005). Efficacy of tribasic copper chlorid (TBCC) to reduce the harmful effect of aflatoxin in broiler. Turkey Journal veterinary animal science. 29: 909-916.

10. Hurley, D. J.; Neige, R. D.; Higgin, S. K. F.; Rotlinghous, G. E. and Stahr, H. (1999). Short-term exposure to subacute doses of aflatoxin-induced depressed mitrogen responses in young Mallarodducks. Avian Dis., 43: 649-655.
11. Ratcliffe, M. J. H.; Paramithiotis, E.; Coumidis, A.; Sayegh, C.; Demaries, S.; Martines, O. and Jacobsen, K. A. (1996). The bursa of Fabricius and its role in avian B lymphocyte development. In Poultry Immunology. 1st ed. Edited by Davison, T. F., Morris, T. R. and Payne, L. N. PP. 11-30.
12. Khan, B. A.; Husain, S. S. and Ahmad, M. R. (1990). Response of aflatoxin, journal of Islamic academy of science. 3(1): 27-29.
13. Erslan, G.; Essiz, D.; Akdogan, M.; Sahindokuyuca, F. and Altintas, L. (2005). The effect of aflatoxin and Sodium bentonite combined and alone on some blood electrolyte levels in broiler chickens, Turkey journal veterinary animal science. 29: 601-605.
14. Karapinar, M. (1985). The effect of citrus oils and some spices on growth and aflatoxin peoduction by Aspergillus parasiticus. NNRL2999. Int. J. Food Microbiol. 12 : 239-245.
15. Akgul, A. and Kivance, M. (1998). Inhibitory effects of selected Turkish spices and organo components on some food-born fungi. Int. J. Food Microbiol. 6: 263-268.
16. Pina-Vaz, C.; Goncalves, R. A.; Pinto, E.; Costa-de-Dliveira, S.; Tavares, C.; Salgueiro, L.; Cavaleiro, C.; Goncalves, M. J. and Martines-de-Oliverira, J. (2004). Antifungal activity of Thymus oils and their major compounds. J. Eur. Acad. Dermatol Venereol. 18 (1): 73-83.
17. Redha, F. M. J. M.; AL-Rawi, H. H. and AL-Kharaji, N. K. (1989). The constitution of essential oils from IRAQI Plants: Part II: The Labiatae family. Proc. 5th Sci. Conf/5RC-Iraq Baghdad, 7-11 Oct. Vol 5. Part 1.
18. Forag,r.s.; Daw,Z.Y.; Hewedi,F.M. and El-Baroty,g.s.(1989) . Antimicrobial activity of some Egyptian spiceessential Ols.J.Food protection.52:665-667.