تأثير الليفاميزول على معيار اضداد النيوكاسل في دجاج اللحم المغذى على عليقة ملوثة بسموم الافلا

حاتم مجيد مهنا النعيمي[I]

الخلاصة

صممت هذه الدراسة لمعرفة مدى تأثير التثبيط المناعي لسموم الافلا ومدى فعالية الليفاميزول في تقليل تأثير هذا التثبيط في معيار الاضداد والحماية ضد التحدي الناتج من التلقيح بلقاح نيوكاسل في الدجاج.

احتوت التجربة على ثلاثة مجاميع، المجموعة الأولى غذيت على عليقة خالية من التلوث بسموم الافلا ، المجموعة الثانية غذيت على عليقة ملوثة بسموم الافلا، المجموعة الثالثة غذيت على نفس عليقة المجموعة الثانية وأعطيت عقار الليفاميزول بماء الشرب بجرعة 10 ملغم/كغم من وزن الجسم. ولقحت كل المجاميع لقاح النيوكاسل بجرعتين بعمر 10 و 20 يوماً وقيست المناعة بأختبار الاليزا بعمر 6 و 19 و 31 يوماً وأجري اختبار التحدي بعمر 32 يوماً.

أظهرت النتائج أن المجموعة الثانية صاحبة أقل معدل أضداد وأقل نسبة حماية ضد التحدي. في حين كانت المجموعة الأولى صاحبه أعلى معدل أضداد وأعلى نسبة حماية ضد التحدي. أما المجموعة الثالثة أظهرت معدل أضداد ونسبة حماية بعد التحدي أعلى من المجموعة الثانية وأقل من الأولى.

تشير النتائج إلى دور سموم الافلا في التثبيط المناعي للاستجابة المناعية للقاح النيوكاسل وتقليل كفاءة عملية التلقيح وتقليل نسبة الحماية ضد التحدي كما وتشير الى دور الليفاميزول في تقليل هذا التأثير ورفع الاستجابة المناعية للقاح النيوكاسل في الدجاج.

The impact of Levamisole on Newcastle disease antibodies titer in broilers fed with diet contaminated with Aflatoxin

Hatem M. M. AL- Naemey[II]

[I] فرع الامراض والدواجن – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد

[IIII]Department of Pathology, Veterinary Medecine College, Baghdad University

Summary

This study designed to know the immuno suppressor effect of aflatoxins and the efficacy of levamisole to reduce these effects in the titer of antibodies and protection against challenge for Newcastle disease vaccine in chickens.

This trail include three groups, first group fed on ration free from aflatoxins contamination, Second group fed on ration contaminated with aflatoxins, while the third group fed on the same ration of second group and given levamisole via drinking water with the dose of 10mg/kg of body weight.

All groups vaccinated twice against Newcastle disease at 10 and 20 days of age. The immunity evaluated by ELISA test at 6, 19, 31 days of age and challenged at 32 days old.

The results indicate that the second group has the lowest titer of antibodies and protection ratio after challenge, while the first group has the hightest titer of antibodies and high protection ratio after challenge. The titer of antibodies and the protection against challenge in the third group had higher titer than them at second group and lower than them at first group.

These results revealed the role of aflatoxins in immunosuppression for Newcastle vaccines and reduce the efficacy of vaccination process and reduce the protection ratio after challenge, also reveal the role of levamisole in reducing of these effect and elevation of immune response to Newcastle vaccine in chickens.

المقدمة

مرض النيوكاسل أحد أهم وأخطر الأمراض التي تصيب الدواجن مسبباً نسب عالية من الهلاكات وخسائر أقتصادية عالية ومن أهم وسائل الحد من هذا المرض والسيطرة عليه هو التلقيح(1) لذا يجب الحصول على أفضل استجابة مناعية لعملية التلقيح لغرض الحصول على أعلى حماية ضد المرض. وأي تأثير على عملية التلقيح يجعل من الصعب الحصول على استجابة مناعية جيدة مما يؤدي إلى فشل اللقاحات وظهور ثورات مرضية في القطعان الملقحة(2).

توجد العديد من العوامل والمواد والأمراض التي تؤثر على الجهاز المناعي تأثيراً سلبياً مؤدية إلى التثبيط المناعي وبالتالي تقليل فعالية اللقاح وعدم الحصول على استجابة مناعية جيدة وكافية للحماية ضد المرض، مما يؤدي إلى ظهور المرض في القطعان الملقحة وهذا ما يفسر جوانب من أسباب فشل عمليات التلقيح (3).

وتعد السموم الفطرية أحد هذه الاسباب والتي لها دور تثبيطي على الجهاز المناعي(4) ومن أكثر هذه السموم تثبيطاً للجهاز المناعي هي سموم الافلا وهي من السموم الفطرية الخطيرة ولها تأثيرات

مرضية سريرية مؤدية إلى علامات سريرية وتغيرات مرضية ونسب متفاوتة من الهلاكات اعتماداً على الجرعة وفترة التعرض ونوع الطير(5).

ولقد أجريت العديد من الدراسات لاستخدام بعض المواد التي تحد من تأثيرات هذه السموم المرضية وتقليل الهلاكات الناجمة عنها ففي احدى الدراسات استخدم فيتامين A مع العلف الملوث بسموم الافلا لتقليل تأثير هذه السموم في طائر السمان(6) وففي دراسة اخرى استخدم مركب كلوريد النحاس ثلاثي القاعدة لنفس الغرض(7) ،تم في هذه الدراسة استخدام عقار الليفاميزول الذي له كفائة في تنشيط الجهاز المناعي وتحسين الاستجابة المناعية(8).

تهدف هذه الدراسة إلى معرفة تأثير التثبيط المناعي لسموم الافلا على الاستجابة المناعية للقاح النيوكاسل في الدجاج ومدى فعالية استخدام الليفاميزول في تقليل تأثير هذا التثبيط.

المواد وطرائق العمل

تم تحضير عليقتين انتقت مكوناتها بدقة بحيث كانت العليقة الاولى تحوي ذرة من النوعية الجيدة والتي كانت جافة وصحيحة أي خالية من الكسور والتشققات للحصول على عليقة خالية من التلوث و الثانية استخدم فيها ذرة ملوثة بسموم الافلا للحصول على عليقة ملوثة بهذه السموم وبعد تكوين العليقتين تم قياس مدى تلوثها بسموم الافلا باستخدام اختبار الاليزا.

جلبت افراخ عمر يوم واحد من المفقس وربيت سوية وغذيت على عليقة بادءة خالية من التلوث بسموم الافلا حتى عمر ستة أيام. بعدها قسمت إلى ثلاثة مجاميع كل مجموعة تحوي 25 فرخ وعوملت كما يلي:

1- المجموعة الأولى : غذيت على علف خالي من التلوث بسموم الافلا من عمر يوم واحد وحتى نهاية التجربة.

2- المجموعة الثانية : غذيت على علف ملوث بسموم الافلا وبنسبة 26 جزء من المليون من عمر ستة أيام وحتى نهاية التجربة.

3-المجموعة الثالثة: غذيت على علف ملوث بسموم الافلا وبنسبة 26 جزء من المليون وأعطيت عقار الليفاميزول بتركيز 10 ملغم/ كغم من وزن الجسم من عمر ستة أيام حتى نهاية التجربة.

جميع الافراخ اعطيت جرعتين من لقاح نيوكاسل حي، الاول بعمر 10 يوم عترة B_1 من أنتاج شركة intervet والثاني بعمر 20 يوم عترة Lasota من انتاج نفس الشركة. ولقحت الطيور بطريقة داخل الحوصلة وتم سحب الدم من كل المجاميع ثلاثة مرات السحبة الأولى بعمر ستة أيام لقياس المناعة الأمية والسحبة الثانية بعمر 19 يوم لقياس مستوى الاستجابة المناعية المتكونة من اللقاح الأول والسحبة الثالثة بعمر 31 يوم لقياس مستوى الاستجابة المناعية المتكونة من الجرعتين.

وعرضت 15 طير من كل مجموعة إلى التحدي بعترة حقلية مصدرها فرع الامراض و الدواجن كلية الطب البيطري جامعة بغداد د. عبد الامير زاهد وبجرعة $10^{7.2}$ EID_{50}عن طريق الفم والمنخر بعمر 32 يوم. بعدها تم مراقبة الطيور لملاحظة العلامات السريرية والتغيرات المرضية وعدد الهلاكات. وتم اعتماد اختبار الاليزا لقياس مستوى الاضداد في أمصال الطيور الملقحة.

اعطيت جميع الطيور لقاح ضد مرض الجراب الخمجي جرعتين الأولى بعمر 7 يوم والثانية بعمر 14 يوم نوع D78 من انتاج شركة intervet كاجراء وقائي.

النتائج

يوضح الجدول (1) نتائج اختبار الاليزا لقياس معيار الاضداد من أمصال الطيور الملقحة بعمر 19 و 31 يوم. إذ اظهرت النتائج وجود فروقات معنوية مهمة ($P<0.01$) بين معدلات الاضداد بعمر 19 يوم وكانت المجموعة الأولى صاحبة أعلى معدل وبفرق معنوي مهم ($P<0.01$) عن المجموعتين الثانية والثالثة. تلتها المجموعة الثالثة التي كان معدلها أقل من المجموعة الاولى واعلى من المجموعة الثانية وبفرق معنوي مهم ($p<0.01$). في حين كانت المجموعة الثانية صاحبة اوطأ المعدلات.

كانت المعدلات بعمر 31 يوم اعلى بشكل ملحوظ وكانت الفروقات بين المجاميع اكثر وضوحاً وبنفس الترتيب في العمر السابق (19 يوم) اذا اظهرت المجموعة الاولى اعلى معدل وبفرق معنوي مهم ($p< 0.01$) تلتها المجموعة الثالثة وادناها المجموعة الثانية.

الجدول (1) نتائج اختبار الاليزا لمعدلات الاضداد لمجاميع الدراسة.

المجاميع / العمر (يوم)	1	2	3
19	a 3239.3 ± 249.3	b 2622.6 ± 373.9	c 3276.9 ± 315.3
31	a 10186.6 ± 845.3	b 5712.5 ± 786.9	c 8981.3 ± 124.6

- الارقام المختلفة تمثل وجود فروقات معنوية ($p<0.01$) بين المجاميع بنفس العمر.
- علماً ان المناعة الأمية كانت 2460.

- الارقام الافقية (1، 2، 3) تمثل ارقام المجاميع ، الارقام العمودية (19، 31) تمثل اعمار الطيور.

ويوضح الجدول (2) عدد الهلاكات في كل مجموعة بعد التحدي بعمر 32 يوم و النسبة المئوية للحماية ضد التحدي بفايروس نيوكاسل الضاري وهذه النسبة تمثل النسبة المئوية لعدد الطيور الناجية إلى عدد الطيور الكلي المعرضة للتحدي.

حيث اظهرت المجموعة الاولى اعلى نسبة حماية وبنسبة 100% وبدون اي هلاكات تلتها المجموعة الثالثة بعدد هلاكات 2 فقط وبنسبة حماية 80% في حين كانت المجموعة الثانية صاحبة اعلى عدد من الهلاكات (5) وصاحبة اوطأ نسبة حماية ضد التحدي 66.67%.

الجدول (2) عدد الهلاكات و النسبة المئوية للحماية بعد التحدي.

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

عدد الهلاكات = يمثل عدد الطيور الهالكة من العدد الكلي

المناقشة

تم دراسة تأثير هذه المواد في الاستجابة المناعية للقاح مرض النيوكاسل كونه احد اهم الامراض التي تصيب الدجاج ولا يوجد برنامج لقاحي في تربية الدواجن يخلو من التلقيح ضد هاذا المرض. ورافق التلقيح بهذا المرض التلقيح بمرض الجراب الخمجي كاجراء وقائي ولكي تكون التجربة موافقة للواقع العملي لتقارب اوقات التلقيحات بهذين المرضين(9).

واعتمد اختبار الاليزا في قياس مستوى الاضداد في امصال الدم حيث يعتبر هذا الاختبار المصلي من اكثر الاختبارات دقة ويعطي صورة واضحة على مستوى المناعة الخلطية في الطير (10).

ومن خلال تحليل النتائج نلاحظ ان التثبيط المناعي وضعف الاستجابة المناعية من قلة مستوى الاضداد ونسبة الحماية واضح في المجموعة الثانية و المتغذية على عليقة ملوثة بسموم الأفلا بتركيز 26 جزء من المليون اذ تعتبر التراكيز الاعلى منه من التراكيز السامة جداً و مميتة في حين التراكيز الادنى تؤدي إلى تثبيط مناعي وخلل بعملية التمثيل(5) ويأتي هذا الفعل من تأثير هذا السم على الجهاز المناعي للطير أذ يؤدي إلى تلف في الخلايا اللمفاوية في الجريبات اللمفاوية في جراب فابريشيا(11) وهذه بدورها

الخلايا الاكثر اهمية و المسؤولة عن انتاج خلايا البلازما المنتجة للاضداد(12) وبالتالي يؤدي إلى عدم كفائة الجهاز المناعي في تأدية وظيفته بصورة كاملة مما يعرقل الاستجابة المناعية للقاح وتكون المناعة غير كافية لتوفير الحماية اللازمة ضد التحدي(13).

كما وتوجد عدد من الدراسات التي تشير إلى ان الطيور المعرضة لهذه السموم تعاني من نقص في بروتينات الدم خصوصاً الكلوبيولين(14،15) وهو من البروتينات المهمة في تكوين الاضداد التي تمثل العنصر الاساسي في الاستجابة المناعية الخلطية(12).

تم اعتماد الليفاميزول واستخدامه في هذه الدراسة في المجموعة الثالثة لوجود عدد من الدراسات التي تشير إلى فعاليته المناعية(8) واختيرت الجرعة 10 ملغم/كغم من وزن الجسم اعتماداً على دراسة خماس و النعيمي ، 2001 التي جربت فيها اربع جرع لليفاميزول لتحسين الاستجابة المناعية للقاح نيوكاسل في الدجاج ووجد ان افضل جرعة هي 10 ملغم/كغم من وزن الجسم(16). واعطيت بهذه الطريقة أي بصورة مستمرة اعتماداً على النتائج التي وفرت خلال الاعطاء بهذه الطريقة في دراسة اخرى(17). ولوحظ التأثير المناعي لليفاميزول واضحاً في الاستجابة المناعية للمجموعة الثالثة التي استخدم فيها الليفاميزول للحد من تأثير سموم الافلا في التثبيط المناعي وتقليل استجابة الجهاز المناعي للقاح وقلة كفاءة عملية التلقيح في توفير حماية ضد التحدي فكانت معدلات الاضداد في هذه المجموعة و النسبة المئوية للحماية ضد التحدي اعلى منها في المجموعة الثانية التي كانت عليقتها ملوثة بسموم الافلا وبدون اي معاملة اخرى. ويأتي هذا الارتفاع بالاضداد ومستوى الحماية ضد التحدي للمجاميع المعاملة بالليفاميزول من قدرة الليفاميزول على تحسين الاستجابة المناعية حتى في المضائف التي تعاني من اثباط مناعي وتلف نسبي لبعض مكونات الجهاز المناعي كما في الدراسة التي اجراها Panigraphy وجماعته عام 1979 الذي اعطى الليفاميزول إلى دجاج رومي يعاني من اثباط مناعي نتيجة إضافة بعض العقاقير المؤثرة على الجهاز المناعي ولاحظ ان المجاميع المعاملة بالليفاميزول اعطت استجابة مناعية افضل من المجاميع المتناولة لهذه العقاقير ولكن بدون الليفاميزول(18) ومن ثم فأن في هذه الدراسة حتى لو كان هناك أذى للجهاز المناعي نتيجة التأثير التراكمي لسموم الافلا الفطرية فأن الليفاميزول يعمل على تحسين الاستجابة المناعية لهذه الطيور نتيجة التأثير الايجابي على صحة الطير والتأثير غير النوعي لليفاميزول على الجهاز المناعي للطير حيث يمكن ان يعمل بطريقة تشابه طريقة هرمون الثايموبايوتين مؤدياً إلى تحفيز تمايز خلايا T اللمفية ويساهم في تنظيم إنتاج الليمفوكاينات(19) كما ويساعد في إنتاج الانترفيرون(20) بالاضافة إلى قدرته على تحسين كفائة البلعمة للخلايا البلعمية(21) وزيادة مستوى البروتينات في مصل الدم(16) ويعمل على تقليل تأثير الاجهاد(17). كل هذه الصفات ساعدت في تقليل تأثير التثبيط المناعي لسموم الافلا الا انه بالرغم من هذا كله لم

ترتقي معدلات الاضداد ومستوى الحماية المتكونة من عملية التلقيح إلى مثيلاتها في المجموعة الاولى والتي كانت تتناول علف خالي من اي تلوث بسموم الافلا التي اظهرتاعلىمعدلات اضداد واعلى مستوى من الحماية ضد التحدي.

Reference

1. Keleta, E.F. (1997). Epidemiology of avian diseases. Acta vaternaria Hungarica. 45(3): 267-270.
2. Aini, I. (1993). Control of ponltry diseases in Malysia. Animal industry in Malysia: 147-150.
3. McMullin, P. (1985). Factors which interfer with vaccine efficacy 1st Sta. Catarina poultry symposium: 10-20
4. Mezes, M; Sura, P.; Saly; G.; Speake, B.K.; Gaal, T. and Maldjian, A. (1997). Nutritional Metabolic diseases of poultry and disorders of the biological antioxidant defence system. Acta veternaria Hungarica 45 (3): 349-352.
5. نوار، مصطفى والناطور، رشاد. (1989). الافلاتوكسين والمايكوتوكسينات: في المايكوتوكسينات والتسمم المايكوتوكسيني في الإنسان والحيوان. الجزء الاول. الطبعة الأولى: 45–49.
6. Denli, M.; Celik, K. and okan, F. (2003). Effect of vitamin supplementary in the feed to reduce toxic effect of aflatoxin B_1 on Japanes quils (Coturnix japanica). International journal of poultry science 2(2): 174-177.
7. Celik, S.; Erdogan, Z.; Erdogan, S., and Bol, R. (2005). Efficacy of tribasic copper chlorid (TBCC) to reduce the harmfull effect of aflatoxin in broiler. Turkey journal veterinary animal science. 29: 909-916.
8. Spector, S.; Munjal, I. and Shmid L.D. (1998). Effects of immunostimulant, levamisole on opiate with drawal and levels of endogenous opiate alkaloids and monoamines neurotransmeter in rat brain. Neuro psychopharmacology (1998) 19: 417-427.
9. Ali, A.S.; Abdulla, M.O. and Mohammed, M.E.H. (2004). Interaction between Newcastle disease and infections bursal disease vaccines commonly used in sudan. International journal of poultry science. 3(4): 300-304.
10. Tabid, M. H.; Makkawi, A.; Mahasin, E. and Ali, A.S. (2004). Comparative evaluation of Haemagglutination inhibition test and enzyme-linked immuno sorbent assay for detection of antibodies against Newcastle disease vaccine in broiler chicks. International journal of poultry science. 3(10): 668-670.

11.Khan, B.A.; Husain, S.S. and Ahmed, M.R. (1990). Response of three commercial broiler chicken strain to aflatoxin, journal of Islamic academy of science. 3(1): 27-29.

12.Sharma, J. M. (1997). The structur and function of the avian immune system. Acta veternavia Hungarica. 45(3): 229-231.

13.Dohms, J. K. (1991). Mechanism of immunosuppression. Veterinary immuno pathology. 30(1): 19-30.

14.Eraslan, G. Essiz, D.; Akdogan, M.; Sahindo kuyuca, 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.

15.Oberheu, G.D. and Dabbert, C.B. (2001). Aflatoxin production in supplemental feeders provided for northern bob wite in texas and Oklahoma journal of wild like diseases 37(3): 475-480.

16. خماس، عماد جواد و النعيمي، حاتم مجيد. (2001). تأثير الليفاميزول في الاستجابة المناعية الخلطية للقاح نيوكاسل في الدجاج. المجلة الطبية البيطرية العراقية. 27 (1): 111-117.

17. صبري، محمد هادي. (2002). الليفاميزول كعامل مضاد للاجهاد والتثبيط المناعي في دجاج اللحم. اطروحة ماجستير مقدمة إلى كلية الطب البيطري- جامعة بغداد – امراض الدواجن.

19. Panigraphy, B.; Grumbles, L.C.; Millaris, D.; Nagi, S.A. and Hall, C.G. (1979). Antibiotic induce immunosuppression and levamisole induce immunoptentiation in turkeys. Avian diseases. 23: 401-408.

19. Abdalla, E.E.; Adams; J.J.; Blair, G.E.; Bolyston, A.; Sue, L.; Ing, H.M.; Finan, D. and Johnston, D. (1995). The immunomodulatory effect of levamisole is enfluenced by postoperative changes and type of lymphocyte stimulant. Cancer immunology and Immuno therapy. 41: 133-198.

20. Bourinbair, A.S.; Lee-Husing, S.; Okrasink, K. and Borkowsky, W. (1994). Anti HIV effect of immunomodulating agent, levamisole, Invitro. Biomed-pharmocother. 48: 327-330.

21. Atwohl, M.; Holzenbein, T.; Wagnev, L.; Frenden thaler, A.; Waldhaus, W. and Baumgartner pazer, M.B. (2000). Levamisole induce apoptosis in cultured vascular endothelial cells. British journal of pharmacology. 131: 1577-1583.