

## اثر لوامیزول هیدروکلراید روی تغییرات لنفوسیتی و عیار آنتی بادی سرمی ضد ویروس نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی

عزت‌الله فتحی<sup>۱\*</sup>، محمدحسن بزرگمهری‌فرد<sup>۲</sup>، مجید غلامی‌آهنگران<sup>۱</sup>، خسرو کمالی<sup>۳</sup>

### چکیده

یکی از راه‌های پیشگیری و کنترل بیماری نیوکاسل واکسیناسیون به موقع می‌باشد. ارزش هر واکسن در میزان تیتراژ آنتی بادی تولیدی بعد از واکسیناسیون است. به نظر می‌رسد داروی لوامیزول هیدروکلراید روی سیستم ایمنی بدن اثر تقویت‌کنندگی داشته. در این راستا ۲۲۵ قطعه جوجه یکروزه نژاد گوشتی سویه تجاری راس به ۵ گروه و در سه تکرار تقسیم شدند. گروه اول به عنوان شاهد (بدون مصرف دارو). گروه دوم لوامیزول هیدروکلراید را از یک روزگی به صورت تزریق زیر جلدی با دز ۲mg/kg یک بار در هفته تا هفته ششم، گروه سوم لوامیزول هیدروکلراید را از یک روزگی تا هفته ۶ با دز ۱۰mg/kg به صورت آشامیدنی روزانه دریافت کرد. گروه چهارم لوامیزول هیدروکلراید را همزمان با واکسن نیوکاسل با دز ۲mg/kg به صورت یکبار تزریق زیر جلدی دریافت کرد. گروه پنجم لوامیزول هیدروکلراید را با دز ۱۰mg/kg همزمان با واکسن نیوکاسل به صورت آشامیدنی به مدت ۲۴ ساعت دریافت کرد. نمونه‌گیری ۱۱ روز بعد از هر واکسیناسیون انجام شد. نتایج حاصل نشان داد که میانگین عیار پادتن ضد ویروس نیوکاسل (HI) و تعداد لنفوسیت‌ها پس از واکسیناسیون مرحله اول و دوم علیه بیماری نیوکاسل با واکسنهای (Lasota و B1 سویه) بین گروه شاهد با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $P < 0/01$ ). ولی در آزمایش نمونه‌ها پس از مرحله سوم واکسیناسیون با واکسن (Lasota) بین گروه شاهد با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. تجویز این دارو روی ضریب تبدیل غذایی و میانگین وزن جوجه‌ها در هفته‌های مختلف تأثیری نشان نداد. با این وجود استفاده از این ترکیب می‌تواند موجب تقویت اثر واکسیناسیون در سنین اولیه گردد.

**واژگان کلیدی:** لوامیزول هیدروکلراید، واکسیناسیون، جوجه‌های گوشتی، ویروس نیوکاسل

### مقدمه

بیماری نیوکاسل یکی از بیماری‌های مهم طیور در جهان است و بعنوان یک محدودیت اقتصادی به حساب می‌آید. عامل بیماری ویروسی از خانواده پارامیکسوویریده و جنس Avulavirus می‌باشد. ژنوم

- ۱- استادیار بخش بیماری‌های طیور دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد
  - ۲- استاد بخش بیماری‌های طیور دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
  - ۳- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد
- \*-نویسنده مسئول Ezzatfathi @ yahoo com.

پاسخهای سلولهای دفاعی بر ایمنی میزبان اثر می‌گذارد و باعث بهبود کار سلولهای چند هسته‌ای، ماکروفاژها و T سل‌ها می‌شود و از این طریق باعث تقویت سیستم ایمنی بدن می‌شود (۸ و ۶). نکته قابل توجه دیگر اینکه داروی لوامیزول هیدروکلراید در مدت ۲۴ ساعت اول به سرعت از بدن دفع می‌شود. ۴۶ درصد از طریق ادرار و ۳۲ درصد از طریق مدفوع می‌باشد و لذا از نظر باقیمانده دارو در لاشه مشکل چندانی ندارد (۱).

لذا هدف این مطالعه بررسی نقش اثر لوامیزول هیدروکلراید روی سیستم ایمنی بدن بعد از واکسیناسیون علیه بیماری نیوکاسل بود.

### مواد و روش کار

در این بررسی تعداد ۲۲۵ قطعه جوجه یکروزه از نژاد گوشتی سویه تجاری راس بطور تصادفی در پنج گروه ۱۵ قطعه‌ای در سه تکرار قرار گرفتند. در طول دوره آزمایش (۴۱ روز) تمام گروهها در شرایط کاملاً یکسان از نظر تغذیه، تهویه، مدیریت و واکسیناسیون بودند و تنها از نظر اضافه کردن داروی لوامیزول هیدروکلراید به آب آشامیدنی و یا تزریق دارو تفاوت داشتند (جدول ۱). جهت تعیین میزان عیار آنتی بادی مادری تعداد ۲۰ قطعه جوجه در روز اول مورد آزمایش مهار اگلوتیناسیون (HI) و شمارش لنفوسیتی قرار گرفت که میانگین عیار آنتی بادی مادری ضد ویروس نیوکاسل براساس آزمایش HI ۶/۲ بود.

واکسن سویه B1 در ۹ روزگی به صورت قطره چشمی و واکسن سویه لاسوتا به روش آشامیدنی در ۲۰ و ۳۰ روزگی استفاده شد.

جهت تعیین میزان عیار پادتن ضد ویروس نیوکاسل از آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI) استفاده گردید.

آن RNA با سنس منفی، چند شکلی و گاهی کروی یا رشته‌ای است. بیماری نیوکاسل بر اساس علائم کلینیکی به پنج فرم تقسیم می‌گردد. شامل: Viscerotropic velogenic, Neurotropic velogenic, Asymptomatic و Mesogenic, Lentogenic می‌باشد. این تقسیم‌بندی منعکس کننده تفاوت در سویه‌های ویروس نیوکاسل است. ولی با وجود این تفاوت در تقسیم‌بندی، تمام ویروسهای بیماری نیوکاسل متعلق به یک سروتیپ هستند (۹). کنترل بیماری در مناطق اپیدمیک بستگی به واکسیناسیون آن منطقه دارد. اما با وجود واکسینه کردن گله‌ها هنوز در برخی مناطق بروز و شیوع بیماری مشاهده می‌گردد. شروع پاسخ ایمنی در عفونت با ویروس نیوکاسل توسط ایمنی با واسطه سلولی می‌باشد که در ۲-۳ روز اول مواجهه پرنده با سویه‌های واکسن زنده قابل تشخیص است. این موضوع بیان می‌کند که احتمالاً ایمنی سلولی در پرندگان واکسینه در مقابل عفونتها به صورت یک ایمنی اولیه ای است که قبل از یک پاسخ آنتی بادی قابل اندازه گیری مشاهده می‌شود (۴). اهمیت ایمنی با واسطه سلولی در اثر ایمنی ایجاد شده با واکسن واضح و شفاف نیست و یک پاسخ ثانویه قوی به عفونت شبیه به پاسخ آنتی بادی دیده نشده است. آنتی بادی‌ها علیه گلیکو پلی پپتیدهای سطحی F و HN عمل می‌کنند و می‌توانند ویروس‌ها را خنثی کنند. معمولاً آنتی بادی‌ها ۱۰-۶ روز پس از عفونت در سرم قابل تشخیص هستند. ولی بهترین پاسخ ایمنی در مدت ۳-۴ هفته طول می‌کشد تا بدست آید که به طور عمده IgA همراه با مقدار زیادی IgG می‌باشد (۴). لوامیزول هیدروکلراید دارویی است که بیشتر به عنوان ضد انگل نامتودی در دامپزشکی مصرف می‌شود. این دارو از طریق مهار آنزیم سوکسینات دهید روزناز باعث وقفه در مراحل متابولیسم بدن کرم و کاهش تولید ATP و در نهایت فلج عضلات کرم می‌شود. علاوه بر این کار ثابت شده است که لوامیزول به عنوان محرک سیستم ایمنی از طریق تعدیل

سیتوپلاسم رنگ بازوفیلی ضعیفی به خود گرفته، آبی کمرنگ یکنواخت و کمتر واکوئل دارند. لنفوسیت‌های کوچک ممکن است با ترومبوسیت‌ها اشتباه شود. لنفوسیت‌های کوچک هسته ای بزرگ با توده‌های کروماتینی بزرگ و سیتوپلاسم آبی کمرنگ هستند. لنفوسیت‌ها بیشتر گرد هستند ولی ممکن است در اثر فشار سلول‌های مجاور شکل‌های متفاوتی داشته باشند. در این مطالعه گروه‌ها از نظر میانگین وزن، تعداد تلفات، غذای مصرفی و ضریب تبدیل غذایی در آخر دوره آزمایش مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج حاصل از آزمون HI و شمارش لنفوسیت‌ها در نرم افزار Excel جمع‌آوری و طبقه‌بندی و سپس توسط آزمون ANOVA مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

## نتایج

نتایج حاصل از آزمون HI و شمارش لنفوسیت‌ها در مرحله اول و دوم آزمایش نمونه‌ها تمام گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل در سطح ( $P < 0.01$ ) اختلاف آماری معنی‌داری نشان دادند ولی بین گروه‌های آزمایشی که داروی لوامیزول هیدرو کلراید را مصرف کرده بودند هیچگونه اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار شماره‌های ۱ و ۲).

بررسی نتایج مرحله سوم آزمایش نمونه‌ها هیچگونه اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی و کنترل نشان نداد (نمودار شماره‌های ۳ و ۴).

نتایج حاصل از میانگین وزن و ضریب تبدیل غذایی هر گروه در آخر دوره (۴۲ روزگی) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت که اختلاف معنی‌داری در میانگین وزن و ضریب تبدیل غذایی گروه‌های مختلف دیده نشد (نمودار شماره‌های ۵-۶).

## جدول شماره ۱: نحوه تجویز داروی لوامیزول هیدروکلراید، سن نمونه‌گیری، واکسیناسیون و خونگیری در گروه‌های مختلف

گروه‌های آزمایشی	زمان مصرف دارو	سن واکسیناسیون	سن نمونه‌گیری	نوع نمونه
گروه ۱	-	۳۰، ۲۰، ۹ روزگی	۳۱، ۲۰، ۴۱ روزگی	خون وریدی
گروه ۲	۲۸، ۲۱، ۱۴، ۷، ۱ روزگی، تزریق ۳۵ روزگی، یکبار ۲mg/kg sc	۳۰، ۲۰، ۹ روزگی	۳۱، ۲۰، ۴۱ روزگی	خون وریدی
گروه ۳	از سن ۱ روزگی تا سن ۴۱ روزگی، خوراکی ۱۰mg/kg	۳۰، ۲۰، ۹ روزگی	۳۱، ۲۰، ۴۱ روزگی	خون وریدی
گروه ۴	همزمان با مصرف واکسن، تزریق ۲mg/kg، یکبار sc	۳۰، ۲۰، ۹ روزگی	۳۱، ۲۰، ۴۱ روزگی	خون وریدی
گروه ۵	همزمان با مصرف واکسن، ۲۴ ساعت خوراکی ۱۰mg/kg	۳۰، ۲۰، ۹ روزگی	۳۱، ۲۰، ۴۱ روزگی	خون وریدی

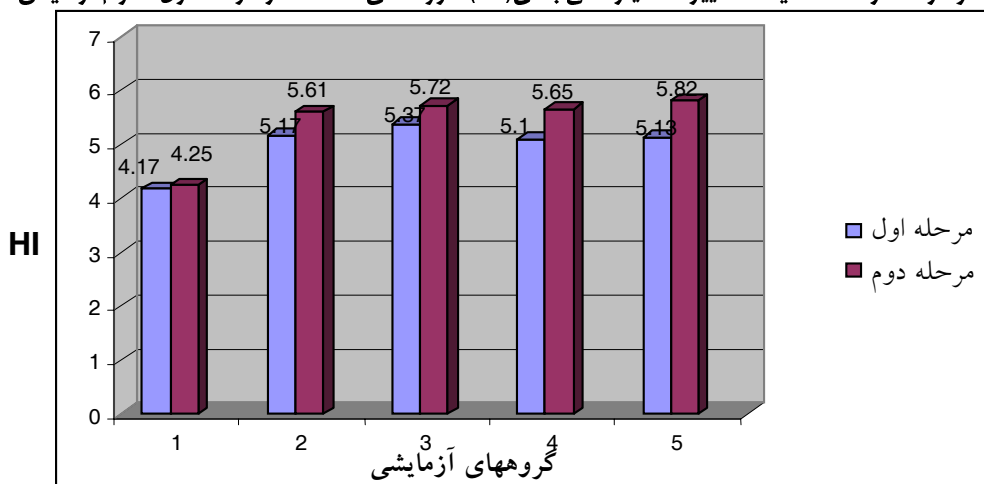
SC=تزیرپوستی

شمارش لنفوسیت‌ها: تهیه گسترش‌های خونی برای شمارش تفریقی لکوسیت‌ها در پرندگان مشابه روش تهیه گسترش‌های خونی در پستانداران است زیرا در این حالت تعداد کمتری سلول استحاله یافته در گسترش خونی دیده می‌شود. استفاده از خون‌های هپارینه پیشنهاد نمی‌شود زیرا این خون‌ها کیفیت رنگ آمیزی ضعیفی دارند.

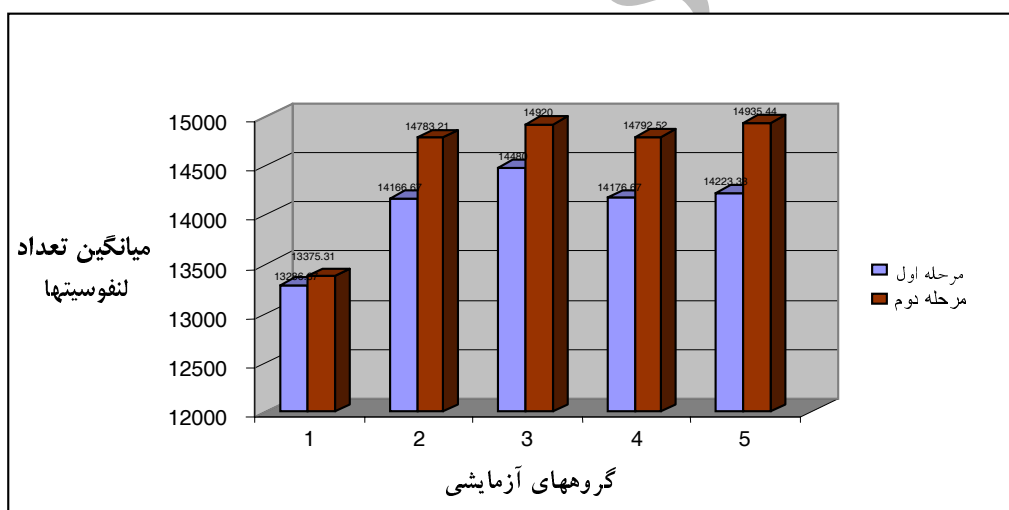
برای تهیه گسترش‌های خونی می‌توان از خون‌هایی که بر روی ماده ضد انعقاد EDTA گرفته شده است استفاده کرد.

برای رنگ‌آمیزی از رنگ گیمسا استفاده شد. گسترش‌های خونی خشک شده را در الکل متیلیک به مدت ۱ دقیقه تثبیت کرده و پس از خشک شدن، محلول رنگ آماده شده را بر روی گسترش ریخته و مدت زمان ماندن محلول روی گسترش ۱۵ دقیقه است. هسته لنفوسیت معمولاً در مرکز سلول، گرد و دارای توده‌های متراکم و بهم فشرده کروماتین است.

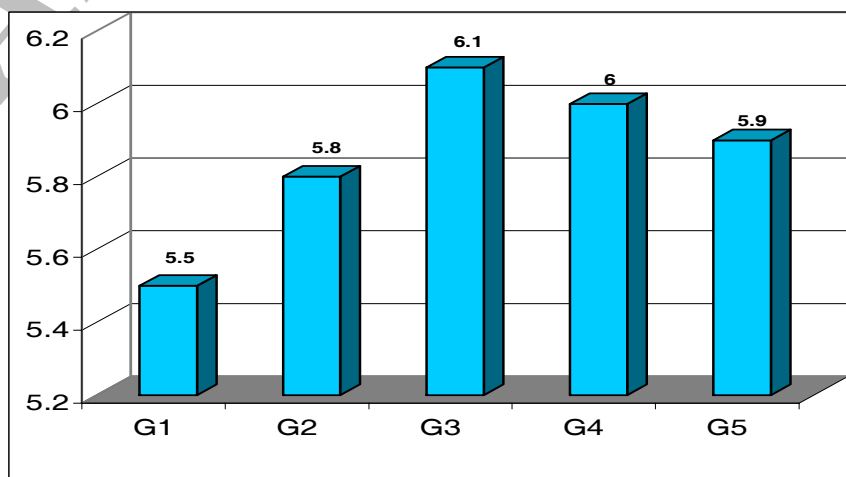
نمودار شماره ۱- مقایسه تغییرات عیار آنتی بادی (HI) گروه های مختلف در مرحله اول ، دوم آزمایش



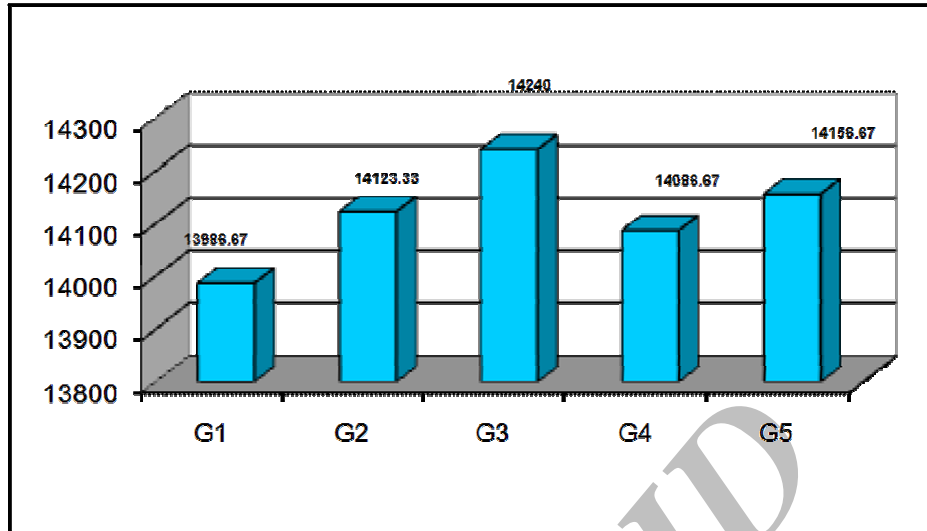
نمودار شماره ۲- مقایسه تغییرات شمارش لنفوسیتها در گروههای مختلف در مرحله اول ، دوم آزمایش



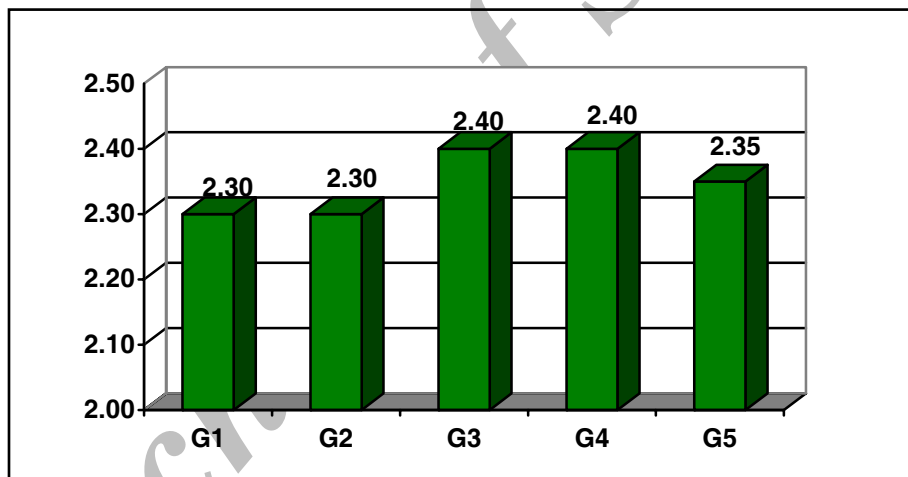
نمودار شماره ۳- مقایسه تغییرات عیار آنتی بادی (HI) گروه های مختلف در مرحله سوم آزمایش



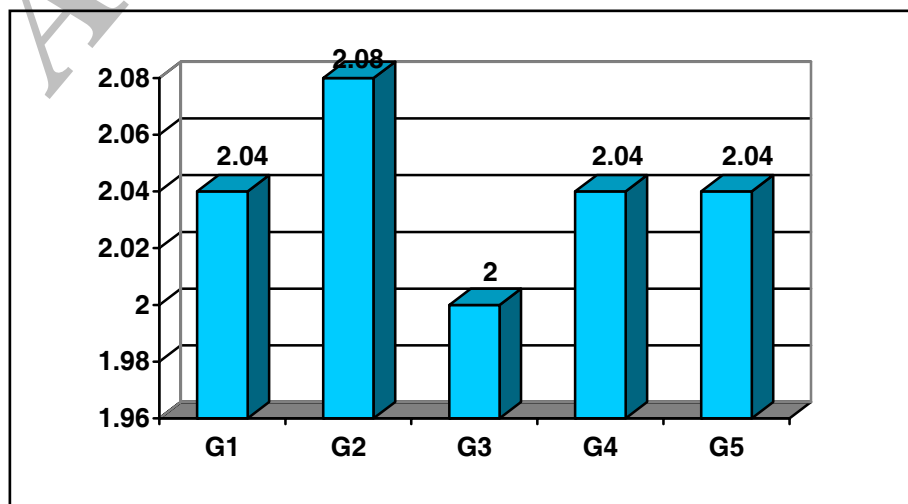
نمودار شماره ۴- مقایسه تغییرات شمارش لنفوسیت ها در گروه های مختلف در مرحله سوم آزمایش



نمودار شماره ۵- مقایسه تغییرات میانگین وزن گروه‌های مختلف در انتهای دوره آزمایش (۴۲ روزگی)



نمودار شماره ۶- مقایسه تغییرات ضریب تبدیل غذایی گروه‌های مختلف در آخر دوره آزمایش (۴۲ روزگی)



## بحث

می‌دهد که اختلاف آماری معنی داری بین گروه‌های آزمایشی و گروه کنترل مشاهده نمی‌گردد. مطالعه ایوانف و همکارانش در سال ۱۹۹۷، تاثیرات تویرکولین و لوامیزول بر روی پاسخ ایمنی به دنبال واکسیناسیون گوساله‌ها ضد عفونت‌های پارا آنفولانزایی و سالمونلایی انجام دادند، دریافتند زمانی که لوامیزول ۷ روز بعد از واکسیناسیون استفاده شود در تحریک ایمنی بسیار موثر است (۷).

سویی و همکارانش در سال ۱۹۷۹ اثر لوامیزول را بر روی سیستم ایمنی همورال و سلولی جوجه‌های گوشتی بصورت آزمایشگاهی بررسی کردند و ثابت شد لوامیزول می‌تواند باعث تقویت پاسخ ایمنی احتمالاً از طریق فعال‌سازی سلولهای T شود (۱۰).

آنگلوف و همکارانش در سال ۱۹۸۴ نشان دادند لوامیزول بر ایمنی غیر اختصاصی بدن تاثیر دارد ولی هیچ اثر مستقیمی در فعال‌سازی ایمنی اختصاصی ندارد (۳).

در یک بررسی گیامبرون به بررسی اثر لوامیزول در پاسخ جوجه‌های گوشتی نسبت به واکسیناسیون ضد کوکسیدیوز در سن ۷ روزگی پرداختند. در این بررسی لوامیزول ۳ روز قبل از استفاده واکسن به صورت داخل صفاقی و با دوز ۰/۲۵ mg/kg به کار برده شد. این بررسی نشان داد لوامیزول می‌تواند باعث تقویت پاسخ ایمنی شود (۵).

با توجه به نتایج و مروری که بر روی تحقیقات مشابه انجام شده، صورت گرفت، می‌توان گفت استفاده از لوامیزول هیدروکلراید می‌تواند باعث تقویت سیستم ایمنی جوجه‌ها در هفته‌های اول زندگی شود. حساسیت زیاد جوجه‌های گوشتی به بیماری‌های ویروسی و مدت کوتاه پرورش طیور گوشتی، استفاده از عوامل تقویت کننده سیستم ایمنی در پاسخ به واکسیناسیون برای جلوگیری از بیماری‌های احتمالی می‌تواند در صنعت پرورش طیور بسیار مفید باشد. طبق نتایج به دست آمده تفاوت چندانی بین روش تزریقی و

چون درمان اختصاصی برای بیماری نیوکاسل وجود ندارد کنترل و پیشگیری از بیماری عموماً بر اساس واکسیناسیون گله‌های طیور می‌باشد. لذا در انجام واکسیناسیون بایستی از روش‌های دقیق تر بهره برد تا بتوان ایمنیت کافی علیه بیماری بوجود آورد. استفاده از عوامل یا مواد تقویت کننده سیستم ایمنی یکی از راهکارهایی است که مورد توجه متخصصین این رشته قرار گرفته است. یکی از موادی که می‌تواند سبب افزایش پاسخ سیستم ایمنی بدن نسبت به واکسیناسیون در طیور گردد داروی لوامیزول هیدروکلراید است. این دارو در انسان بعنوان یک تقویت کننده سیستم ایمنی بدن مورد استفاده قرار می‌گیرد (۸). البته داروی فوق بعنوان یک داروی ضد انگل بیشتر مورد توجه است.

در این مطالعه با تجزیه و تحلیل آماری نتایج بدست آمده مشخص می‌شود که استفاده از داروی لوامیزول هیدروکلراید در سنین اولیه زندگی جوجه‌ها می‌تواند منجر به افزایش عیار آنتی بادی ضد ویروس نیوکاسل و همچنین بالا رفتن تعداد لنفوسیتها خون در جوجه‌های گوشتی گردد. همچنانکه نمودارهای ۱ و ۲ نشان می‌دهند مقایسه میانگین عیار آنتی بادی ضد ویروس نیوکاسل در گروه‌های آزمایشی با گروه کنترل در مرحله اول و دوم آزمایش اختلاف معنی‌داری در سطح ( $P < 0.01$ ) نشان می‌دهد. ولی بین گروه‌های مختلف که دارو را از روشها و در زمانهای مختلف دریافت کرده‌اند اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نگردید.

نمودار ۳ و ۴ مقایسه میانگین عیار آنتی بادی ضد ویروس نیوکاسل و تعداد لنفوسیتها در مرحله سوم آزمایش نشان می‌دهد که هیچگونه اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی و گروه کنترل مشاهده نمی‌گردد.

در نمودار (۵ و ۶) مقایسه میانگین وزن جوجه‌ها و ضریب تبدیل غذایی در آخر دوره آزمایش را نشان

- 3- Angelov, A.T., Arnaudov, Kh., Boiadzhieva, I., 1984; Effect of levamisole on the level of antihemagglutinins, serum sialic acid and lysozyme in the aerosol vaccination of chickens against Newcastle disease. *Vet Med Nauki*; 21(10):63-6.
- 4- Calnek, B.W., Barnes, H.J., Beard, C.W., Mc-Dougald, I.R., Saif, Y.M., (1997): *Diseases of Poultry*. 10th Ed. pp: 541-562.
- 5- Giambrone, J.J., Klesius, P.H., (1985): Effect of levamisole on the response of broilers to coccidiosis vaccination, *Poult Sci*; 64(6):1083-9.
- 6- Hardman, J.G., Limberd, I.E., Gilman, A.G., (2001): *The pharmacological basis of therapeutics*, 10th Ed. Mc Graw Hill New York; pp: 1477.
- 7- Ivanov, I.E., Arsov, R., Simov, I., Dimov, I., Sizov, I., (1997): Effect of tuberculin and levamisole on immune response after vaccinating calves against Para influenza and salmonella infection, *Vet Med Nauki*; 24(4):43-9.
- 8- Katzung, B., (2001): *Basic and clinical pharmacology*, 8 Th Ed. Mc Graw Hill New York; pp: 979.
- 9- Murphy, F.A., Gibbs, E. P. J., Horzine, K. M. C., Studdert, M.J., 1999; *Veterinary Virology*, Academic Press. 3rd Ed., pp: 411-428.
- 10- Soppi, E., Lassila, O., Viljanen, M.K., Lehtonen, O.P., Eskola, J., (1979): In vivo effect of levamisole on cellular and humoral immunity in normal chickens, *Cline Exp Immunol*; 38(3): 609-14.

آشامیدنی لوامیزول هیدروکلراید در تقویت سیستم ایمنی وجود ندارد. لذا راه آشامیدنی با توجه به راحتی مصرف توصیه می‌گردد.

با توجه به نتایج بهترین زمان استفاده از لوامیزول هیدروکلراید در جوجه های گوشتی مصرف همزمان لوامیزول و واکسن می باشد.

در این بررسی تفاوت آماری معنی داری بین گروه‌های مختلف با گروه کنترل از نظر وزن نهایی و ضریب تبدیل غذایی وجود ندارد.

با توجه به قیمت ارزان، امکان مصرف آسان، تقویت سیستم ایمنی بدن، اثرات جانبی ناچیز و دفع سریع دارو از بدن، لوامیزول هیدروکلراید گزینه‌ای مناسب جهت استفاده در جوجه‌های گوشتی توصیه می‌شود.

## منابع

- ۱- قمریان، ع. (۱۳۸۲): داروهای دامپزشکی و نهاده‌های تغذیه ای دام، طیور و آبزیان ایران، چاپ دوم، انتشارات قمریان، تهران.
- ۲- کورولکواس، ا.، (۱۳۷۷): شیمی دارویی، ترجمه شفیع‌ع، انتشارات دانشگاه تهران. جلد دوم. صفحه (۱۰۴۱، ۱۰۵۹، ۱۵۱۹).