

تاثیر عصاره خشک گیاه *Echinacea purpurea* بر عیار حاصل از واکنش بیماری نیوکاسل در طیور گوشتی با استفاده از آزمایش ممانعت از هماگلو تیناسیون

محمدحسن بزرگمهری فرد^{*۱} عادل فیضی^۲ پیمان بیژن زاد^۲

(۱) بخش بیماری های طیور دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
(۲) بخش بیماری های طیور دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز - ایران.

(دریافت مقاله: ۲۳ دی ماه ۱۳۸۷، پذیرش نهایی: ۳ اسفند ماه ۱۳۸۸)

چکیده

بیماری نیوکاسل یکی از مهمترین بیماری های طیور است که می تواند با ایجاد تلفات بالا ضرر و زیان اقتصادی فراوانی وارد نماید. تعیین میزان پادتن علیه واکنش این بیماری می تواند شاخص با اهمیتی در تعیین میزان ایمنی علیه بیماری باشد. تحقیقات نشان داده است که عصاره گیاه اکی تاسه پور پوراسبب تحریک ایمنی به صورت فعال سازی فاگوستیوز، تحریک فیبر و پلاستها و افزایش فعالیت لکوسیت ها می شود. در مطالعه حاضر سعی شد تا تاثیر کاربرد یک ماده محرک سیستم ایمنی بنام اکی ناسه پور پورا بر روند تولید پادتن علیه واکنش نیوکاسل مورد بررسی قرار گیرد. بدین منظور ۴۵۰ قطعه جوجه گوشتی بصورت تصادفی به ۵ گروه هر کدام با سه تکرار توزیع شدند. چهار گروه تیمار دزهای مختلفی از دارو به مدت سه هفته از یک روزگی در آب آشامیدنی تجویز شد و گروه پنجم به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد. جوجه های همه گروه ها در روزهای ۱۱، ۱۹، ۲۸ و واکنش نیوکاسل دریافت کردند. متعاقباً در روزهای ۱۰، ۲۵، ۳۴، ۵۲ در هر گروه از ۲۱ جوجه (از هر تکرار ۷ قطعه) نمونه خون اخذ شد و عیار پادتن نیوکاسل توسط آزمایش HI تعیین شد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد مصرف عصاره اکی ناسه پور پورا در هر یک از دزهای فوق اثرات مناسبی بر افزایش عیار آنتی بادی علیه بیماری نیوکاسل دارد که بین گروه کنترل و گروه های تیمار از نظر آماری معنی دار می باشد ($P < 0/01$). همچنین مشخص شد که استفاده از اکی ناسه پور پورا موجب بهبود ضریب تبدیل غذایی و کاهش میزان تلفات می شود که از نظر آماری در مقایسه تیمارها با گروه کنترل معنی دار می باشد ($P < 0/01$). مطالعه حاضر تأیید نمود که ضمن اینکه این گیاه سبب بهبود راندمان رشد جوجه می گردد، بر عیار پادتن علیه ویروس نیوکاسل تأثیر مثبت دارد.

واژه های کلیدی: واکنش بیماری نیوکاسل، عصاره گیاه اکی ناسه پور پورا، طیور گوشتی، ممانعت از هماگلو تیناسیون.

شاهد در نظر گرفته شد. جوجه ها در پن های با مساحت سه متر مربع (ابعاد ۳×۱ متر) و با بستر پوشال توزیع تصادفی شدند.

الف- نگهداری و پرورش: پن ها، پوشال و تجهیزات با گاز فرمالدئید ضد عفونی گردید، و در شرایط پرورش در حد استاندارد و به مدت ۴۲ روز نگهداری شدند.

ب- واکنش نیوکاسل: بر علیه بیماری نیوکاسل، از واکنش B1 ساخت موسسه تحقیقات واکنش و سرم سازی رازی با شماره سری ساخت Lot 12، و واکنش کشته ساخت موسسه تحقیقات واکنش و سرم سازی رازی با شماره سری ساخت P118306 استفاده گردید. در ۱۹ روزگی و ۳۸ روزگی نیز از واکنش نیوکاسل لاسوتا، وارداتی استفاده شد.

ج- تجویز دارو: پودر تهیه شده عصاره خشک به روش اتانولی *purpurea* Echinacea از کارخانه سها هلال ایران خریداری و با دزهای مختلف در گروه های تیمار استفاده گردید، در گروه شاهد نیز از آب مقطر استفاده گردید. بر اساس جدول یک و مطالعات Allen و همکاران (۲) دارو به مدت سه هفته از روز اول در آب آشامیدنی تجویز شد. این عصاره بر اساس میزان اسید شیکوریک استاندارد شده و حداقل اسید شیکوریک موجود در آن نیز ۶ درصد بوده است، همچنین از نظر میزان کل باکتری ها و قارچ ها و مخمرها در محدوده استاندارد بوده و فاقد باکتری های استافیلوکوک اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا و E.coli می باشد.

مقدمه

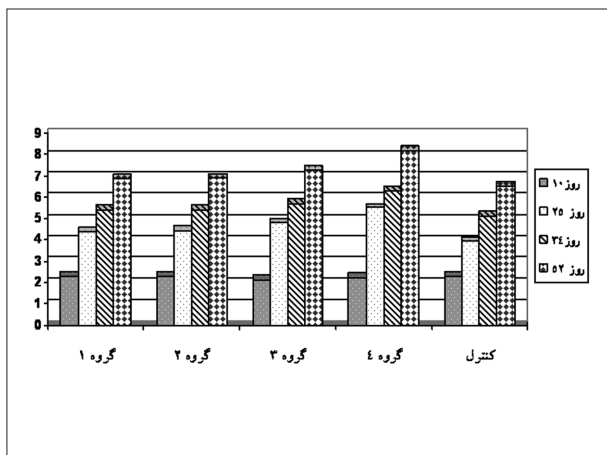
بیماری نیوکاسل یکی از بیماری های فوق حاد در طیور با پاتوتیپ های مختلف می باشد که از نظر حدت و علائم ایجاد شده و میزان مرگ و میر بسیار متفاوت است، که فرم حاد آن در ایران شایع است.

از این رو در این مطالعه جهت امکان تقویت آنتی بادی حاصله از یک ماده محرک ایمنی استفاده گردید. عصاره گیاه اکی ناسه پور پورا از دیر باز در آمریکای شمالی مورد استفاده مردم بوده است و سپس استفاده از آن به اروپا نیز گسترش یافته است. عصاره این گیاه دارای اثرات فراوانی است، که از آن جمله تحریک سیستم ایمنی ذکر شده است (۳). هنوز مکانیسم دقیق آن مشخص نشده است، ولی چندین مکانیسم در رابطه با اثر تحریک سیستم ایمنی را ذکر کرده اند که شامل: فعال سازی فاگوستیوز، تحریک فیبروبلاست ها، افزایش فعالیت تنفسی و افزایش تحرک لکوسیت ها می باشد (۳،۴).

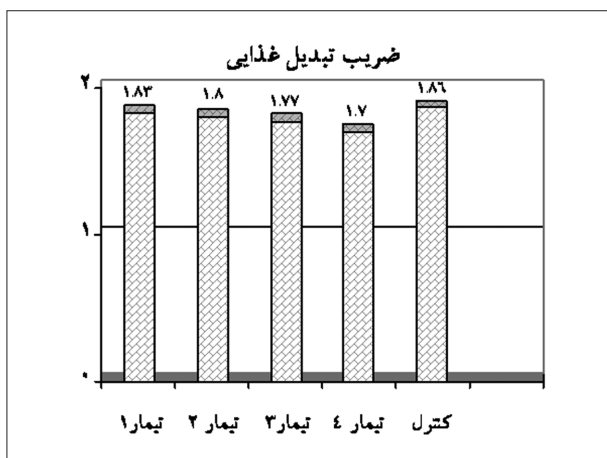
مواد و روش کار

در این مطالعه ۴۵۰ قطعه جوجه گوشتی یکروزه نژاد لوهمن تهیه و با انتخاب تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند و هر گروه نیز به سه تکرار سعی قطعه ای تقسیم شد. چهار گروه به عنوان گروه های تیمار و یک گروه به عنوان

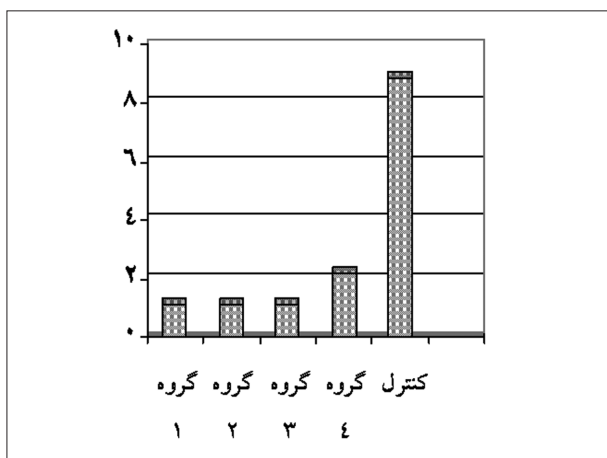




نمودار ۱- میزان عیار آنتی بادی HI در گروه‌ها پس از واکسیناسیون با واکسن نیوکاسل.



نمودار ۲- میزان تلفات در کل دوره پرورشی در گروه‌های مختلف.



نمودار ۳- مقادیر ضریب تبدیل غذایی در گروه‌های مختلف در طول دوره پرورشی.

اختلاف معنی داری بین گروه کنترل با گروه‌های تیماری باشد.

ضریب تبدیل غذایی: ضریب تبدیل غذایی بین گروه‌ها اختلاف معنی داری داشتند ($p < 0.01$). براساس آنالیز داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن جهت تعیین ارتباط بین سطوح مختلف دارو و ضریب تبدیل غذایی نشان می‌دهد که بین سطوح مختلف دارو و ضریب تبدیل غذایی ارتباط

جدول ۱- دزهای مورد استفاده در تیمارهای مختلف (برحسب میلی گرم/روزانه به ازای هر کیلوگرم وزن بدن).

تیمار	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
دز دارو	۱۷	۲۱/۲۵	۲۵/۵	۲۹/۷۵

جدول ۲- میزان عیار آنتی بادی HI نیوکاسل حاصله در گروه‌ها در روزهای ۱۰، ۲۵، ۳۴ و ۵۲ (Mean ± SD).

روز	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	کنترل
۱۰ روز	۲/۲۸±۰/۱۴	۲/۲۸±۰/۰۳	۲/۱۴۲±۰/۱۴	۲/۲۳±۰/۰۸	۲/۲۸±۰/۰۴
۲۵ روز	۴/۳۸±۰/۱۷	۴/۴۳±۰/۰۳	۵/۹±۰/۲۲	۵/۵۲±۰/۱۷	۳/۹۵±۰/۱۶
۳۴ روز	۵/۴۲±۰/۲۵	۵/۴۳±۰/۱۴	۵/۷۱±۰/۰۲	۶/۲۸±۰/۱۴	۵/۱۲±۰/۱۴
روز ۵۲	۶/۸۵±۰/۱۴	۶/۹۱±۰/۱۷	۷/۲۸±۰/۱۴	۸/۱۹±۰/۸	۶/۵۲±۰/۸

ح- تعیین ضریب تبدیل غذایی: جهت تعیین ضریب تبدیل غذایی، دان روزانه در ساعات مشخص وزن گردید، در مقابل هر پین قرار داده شد، و پس از خالی نمودن پس مانده دان روز قبل، کل پس مانده دان نیز بصورت روزانه وزن گردید تا میزان دان مصرف شده، بصورت روزانه توسط جوجه‌ها در هر پین محاسبه گردد، جوجه‌ها نیز بصورت هفتگی توزین گردید.

چ- تهیه نمونه: جهت انجام آزمایشات سرولوژی یکروز قبل از انجام اولین واکسیناسیون و سپس ۱۴ روز پس از هر بار واکسیناسیون، جهت آزمایش HI نیوکاسل نمونه خون اخذ گردید. در مجموع چهار بار خونگیری ۴۲۰ نمونه خون اخذ گردید.

نتایج

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تجویز عصاره خشک گیاه اکی ناسه پورپورا در مقایسه با عدم تجویز آن در گروه شاهد اثرات سودمندی بر افزایش عیار آنتی بادی و کاهش تلفات و ضریب تبدیل غذایی دارد. در نتایج حاصل از تعیین عیار HI در ده روزگی (قبل از تجویز واکسن)، اختلاف معنی داری بین گروه‌های تیمار و شاهد وجود نداشت. این نتایج پس از تجویز واکسن زنده نیوکاسل (B1) و واکسن کشته در ۱۱ روزگی و لاسوتادر سنین ۱۹ و ۳۵ روزگی اختلاف معنی داری بین گروه‌ها را نشان می‌دهد ($p < 0.01$)، همچنین براساس آزمایشات ارتوگونال در تمام نمونه‌گیری‌ها بین گروه‌های تیمار با گروه شاهد اختلاف معنی داری ($p < 0.01$) مشاهده می‌شود. آنالیز داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن جهت تعیین ارتباط بین سطوح مختلف دارو و عیار حاصل از واکسن نشان دهنده اختلاف معنی داری بین دز چهارم دارو با سایر گروه‌های مورد مطالعه می‌باشد.

درصد تلفات اختلاف معنی داری بین گروه‌ها از نظر درصد تلفات وجود دارد ($p < 0.01$)، همچنین براساس آزمایشات ارتوگونال بین تیمارها و کنترل اختلاف معنی دار می‌باشد ($p < 0.01$). براساس آنالیز داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن جهت تعیین ارتباط بین سطوح مختلف دارو و درصد تلفات نیز

شده بدلیل سن بالا یا افزودن هیدروکورتیزون به جیره، درمان با اکی ناسه منجر به طبیعی شدن پاسخ آنتی بادی ها علیه گلبول های قرمز خون گوسفند گردید (۶،۷،۱۸).

بر اساس مطالعات پاتریشیا آلن، بر روی تاثیر اکی ناسه در ایمن نمودن جوجه ها علیه کوکسیدیوز با استفاده از واکسیناسیون، مشخص گردید جوجه هایی که تحت درمان با اکی ناسه بودند نسبت به گروه کنترل پس از مقابله با بیماری، وزن گیری بهتری داشتند که از نظر آماری قابل ملاحظه بود. همچنین نشان داده شد که ایمن سازی با واکسن و تجویز اکی ناسه پورپورا در طی دو تا سه هفته اول به لاور قابل ملاحظه ای باعث کاهش ضایعات کالبدگشایی حاصل از بیماری کوکسیدیوز می شود (۲).

در مطالعه حاضر نقش عصاره گیاه اکی ناسه پورپورا در تحریک سیستم ایمنی و بهبود پاسخ ایمنی با استفاده از واکسیناسیون و انجام آزمایش HI بخوبی نشان داده شد، نتایج بدست آمده با نتایج حاصل از مطالعات Allen (۲)، Maas و همکاران (۱۴)، Bodinet و همکاران (۶) و Frieier (۱۱) در ارتباط با اثر تحریکی عصاره این گیاه بر سیستم ایمنی همخوانی دارد.

در ارتباط با تاثیر عصاره گیاه اکی ناسه پورپورا بر ضریب تبدیل غذایی، در این مطالعه بر اساس نتایج حاصله نشان داده شد که این گیاه منجر به کاهش ضریب تبدیل غذایی و بهبود راندمان در طیور گوشتی می گردد، که این امر در تیمار چهارم در بهترین حالت قرار داشت، که این نتایج با نتایج حاصل از مطالعات Allen (۲) بر روی طیور گوشتی و نتایج حاصل از مطالعه Maas و همکاران (۱۴) بر روی خوک همخوانی داشته است.

بدلیل این که واکنش های حاصل از واکسیناسیون سالیانه خسارات اقتصادی فراوانی را وارد می کنند، بنظر می رسد با تقویت سیستم ایمنی پرندگان می توان با کاهش عوارض حاصل از واکسیناسیون از میزان تلفات ناشی از این عوارض کاست، در این مطالعه کاهش تلفات بخصوص پس از تجویز واکسن های حاد لاسوتا دیده شده است.

References

- Alexander, D. J. (2003) Newcastle disease and other avian pneumoviruses. In: Disease of poultry. Edited by Dennis J. Alexander. (11th ed.) Iowa State University press, Ames, IA. pp. 63-87.
- Allen, P. C. (2003) Dietary supplementation with Echinacea and development of immunity to challenge infection with coccidia. Parasitol Res. 91: 74-78.
- Barret, B. (2003) Medicinal properties of Echinacea: A critical review. Phytomedicine. 10: 66-86.
- Bauer, R., Remiger, P., Jurcic, K., Wagner, H. (1989) Beeinflussung der Phagozytose-Aktivität durch Echinacea-Extrakte [Influence of Echinacea extract on phagocytotic activity. Reviewed in translation,

معنی داری وجود دارد و بهترین ضریب تبدیل غذایی در دز چهارم بدست آمده است.

بحث

بیماری نیوکاسل از بیماری های بسیار مهم در صنعت طیور محسوب می شود، حدت این بیماری بسته به سویه ویروس، گونه و سن میزبان، وضعیت ایمنی میزبان، عفونت های همزمان با سایر ارگانیسیم ها، استرس های محیطی، استرس های اجتماعی، راه آلودگی، دز ویروس و فاکتورهای مدیریتی و پرورشی متفاوت می باشد (۱).

بر اساس مطالعات منتشر شده، اثر تحریک سیستم ایمنی عصاره خشک گیاه اکی ناسه پورپورا به اثبات رسیده است (۲،۳). پژوهشگران ممانعت از فعالیت هیالورونیدازی، تحریک فعالیت کورتکس آدرنال، تحریک تولید پروپرین و تحریک تولید انترفرن پس از درمان با اکی ناسه پورپورا گزارش نموده است (۱۲،۱۳). همچنین بهبود آداپتاسیون ایمنی بوسیله ایمن سازی مشخصاً آشکار گردیده است، به طوری که تحریک بوسیله واکسن منجر به افزایش پرولیفراسیون کلونال سلول های تولید کننده آنتی بادی شده و از این رو موجب افزایش مقاومت در برابر بیماری مورد نظر می شود (۳).

پژوهشگران گزارش کرده اند که استفاده از عصاره اکی ناسه پورپورا منجر به سطوح بالای تحریک اینترلوکین-۱، اینترلوکین-۶، فاکتور نکروز دهنده تومور و اینترفرن در شرایط *in vivo* و *in vitro* و تولید آنتی بادی در مقایسه با عصاره اکی ناسه پالیده و آنکوئیستیفولیا می گردد (۳). در مطالعاتی که توسط Skwarek و همکارانش انجام شد، عصاره ۳۰ درصدی اتانولی اکی ناسه پورپورا منجر به تحریک IFN در کشت سلولی حیوانات آلوده به ویروس گردید (۱۷). عصاره گیاه اکی ناسه منجر به جلوگیری از مکانیسم های التهابی شده است و از لحاظ نظری به عنوان یک داروی ضد التهاب مطرح می باشد (۳). Bauer و همکارانش اظهار داشتند که ممانعت از هیالورونیداز نیز در بین ویژگی های عمده فارماکولوژی یک نسبت داده شده به اکی ناسه قرار دارد (۴). Schraner و همکارانش با استفاده از عصاره گیاه اکی ناسه افزایش غلظت ایمنوگلوبولین در سرم خون مرغ های تخمگذار سالم را نشان دادند (۱۶). بر اساس گزارشات ایچلر و گروگر، سلول های کشت شده آلوده با ویروس که در معرض اسانس اکی ناسه پورپورا قرار گرفته اند، افزایش میزان ارائه آنتی ژن های ویروسی را نشان می دهند (۱۰).

در مطالعه ای که توسط Frieier و همکارانش بر روی موش (swiss mice female) انجام گرفت، نشان داده شد که اکی ناسه پورپورا بمانند بهبود پاسخ ایمنی ذاتی، توانایی بهبود پاسخ ایمنی هومورال را نیز دارا می باشد (۱۱). در مطالعه ای که توسط بودینت و همکارانش بر روی موش های طبیعی و تضعیف ایمنی شده انجام گرفت، نشان داده شد که تجویز عصاره اکی ناسه موجب بهبود قابل ملاحظه ای در پاسخ آنتی بادی علیه گلبول های قرمز خون گوسفند می شود، که این تحریک شامل افزایش در تعداد سلول های تشکیل دهنده پلاک طحالی و افزایش در عیار آنتی بادی های اختصاصی در سرم موش های درمان شده بود. در موش های تضعیف ایمنی



- translator unknown]. Zeits. fur Phyto. 10: 43-48.
5. Berman, S., Justis, J. C., Tilles, J. G. (1998) Dramatic increase in immune mediated HIV killing activity induced by *Echinacea angustifolia*. Int. Conf. AIDS. 12: 582.
 6. Bodinet, C., Freudenstein, J. (1999) Effects of an orally applied aqueous-ethanolic extract of a mixture of *Thujae occidentalis* Herba, *Baptisiae tinctoriae* Radix, *Echinaceae purpureae* Radix and *Echinaceae pallidae* Radix on antibody response against sheep red blood cells in mice. Planta Medica. 65: 695-699.
 7. Bodinet, C., Lindequist, U., Teuscher, E., Freudenstein, J. (2002) Effect of an orally applied herbal immunomodulator on cytokine induction and antibody response in normal and immunosuppressed mice. Phytomedicine. 9: 606-613.
 8. Bodinet, C., Lindequist, U., Teuscher, E., Freudenstein, J. (2004) Influence of peroral application of a herbal immunomodulator on the antibody production of Peyer's patches cells. Arzneimittelforschung. 54: 114-118.
 9. Chaves, F., Chacón, M., Badilla, B., Arévalo, C. (2007) Effect of *Echinacea purpurea* (Asteraceae) aqueous extract on antibody response to *Bothrops asper* venom and immune cell response. Rev. Biol Trop. 55: 113-119.
 10. Eichler, F., Krüger, G. R. F. (1994) Effects of non-specific immunostimulants (Echinacin, isoprinosine, and thymus factors) on the infection and antigen expression in herpesvirus- 6 exposed human lymphoid cells. In Vivo. 8: 565-576.
 11. Frieier, D. O., Wright, K., Klein, K., Voll, D., Dabiri, K., Cosulich, K., George, R. (2003) Enhancement of the humoral immune response by *Echinacea purpurea* in female Swiss mice. Immunopharmacol. Immunotoxicol. 25: 551-60.
 12. Haas, H. (1991) Arzneipflanzenkunde. Mannheim, BI Wissenschaftsverlag. pp. 134- 135.
 13. Linda, S. K., Robert, F., Waters, P., Burkholder, M. (2002) Immunological activity of larch arabinogalactan and echinacea: a preliminary, randomized, double-blind, placebo-controlled trial - Larch and Echine Original Research. Alt. Med. Rev. 7: 138-149.
 14. Maas, N., Bauer, j., Paulicks, B. R., Bohmer B. M., Roth, Mair, D. A. (2005) Efficiency of *Echinacea purpurea* on performance and immune status in pigs. J. Animal Physi. and Animal Nut. 89: 244.
 15. Mayo, M. A. (2002) A summary of the changes recently approved by ICTV. Arch. Vir. 147: 1655-1656.
 16. Schraner, I., Würdinger, M., Klumpp, N., Lösch, U., Okpanyi, S. N. (1989) Modification of avian humoral immunoreactions by Influecx and *Echinacea angustifolia* extract. Zen. Vet. B. 36: 353-364.
 17. Skwarek, T., Tynecka, Z., Glowniak, K., Lutostanska, E. (1996) *Echinacea* L. Inducer of interferons. Herbal. Pol. 42: 110-117.
 18. Zhai, Z., Liu, Y., Wu, L., Senchina, D. S., Wurtele, E. S., Murphy, P. A., Kohut, M. L., Cunnick, J. E. (2007) Enhancement of innate and adaptive immune functions by multiple *Echinacea* species. J. Med. Food. 10: 423-434.

EFFECT OF *ECHINACEA PURPUREA* DRIED EXTRACT EFFECT ON PRODUCING ANTIBODY FROM NEWCASTLE DISEASE VACCINE IN BROILERS BY HI TEST

Bozorgmehri Fard, M.H.^{1*}, Feizi, A.², Bijanzad, P.²

¹Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.

²Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz branch, Tabriz-Iran.

(Received 13 January 2009 , Accepted 22 February 2010)

Abstract:

Newcastle disease is one of the most important causes of economic losses in the poultry production and can be resulted in high mortality. Antibody detection is also an important tool for assessment of the immunity against the disease. In the present study a trial was conducted to evaluate the effect of an immune stimulator (*Echinacea purpurea*) on antibody production against Newcastle disease vaccine. 450 one day old broiler chicks were divide into five groups of three repeat each. For three weeks from day one various doses of *Echinacea purpurea* extract was prescribed to four treatment groups and to the fifth group placebo in water was prescribed. All groups were vaccinated on days:11, 19, 38. Subsequently, serum samples were collected at days 10, 25, 34, 52 of post vaccination from 21 chicks of each group (4 samples of each repeat) and were tested for Newcastle antibody titers by HI test. This experiment showed that the use of *Echinacea purpurea* extract with the rate of 29, 75 Mg per kilo body weight per day had better effects on antibody titre and significantly increased between control group and treatment groups ($p<0.01$). It is also revealed that the use of *Echinacea purpurea* induces FCR improvement and mortality rate was decreased significantly ($p<0.01$).

Key words: Newcastle disease vaccine, *Echinacea purpurea* dried extract, broilers, haemagglutination inhibition.

*Corresponding author's email: mhbfard@ut.ac.ir, Tel: 021-61117047, Fax: 021-66933222