Archive of SID

نشریه دامپزشکی
در
پژوهش و سازندگی شماره ۱۰۸ پاییز ۱۳۹۴
DOI:10.22034/vj.2015.101787

مقایسه اثر چند داروی گیاهی و شیمیایی تجاری بر کاهش آسیب‌های تنفسی، سیستم ایمنی و ماندگاری جوجه‌های گوشتی

• **نسیم حاتم زاده اصفهانی**
دانشجوی دکترای علوم طیور، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس
• **شعبان رحیمی (نویسنده مسئول)**
استاد گروه علوم طیور، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس
• **محمد جواد قراگوزلو**
استاد گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
• **سعید یخکشی**
دانشجوی دکترای علوم طیور، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس
تاریخ دریافت: آبانماه ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۳
E-mail: rahimi_s@modares.ac.ir

چکیده

این مطالعه به منظور مقایسه اثر داروهای گیاهی و شیمیایی تجاری بر سیستم ایمنی و بهبود آسیب های تنفسی جوجه های گوشتی چالش شده با واکسن برونشیت عفونی انجام شد. تعداد۴۵۰ قطعه جوجه گوشتی ماده یکروزه سویه "آرین"به گروه های آزمایشی ۱) آنزوفین، ۲) آنتی بیوفین، ۳) ایمونوفین، ۴) برونکوفین، ۵) مرزه (زاگرول)، ۶) منتوفین، ۷) آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین، ۸) برم هگزین، ۹) شاهد مثبت و ۱۰) شاهد منفی تقسیم شدند. در ۱۴ روزگی تیمارهای ۱ تا ۹ واکسن برونشیت ۴/۹۱ را ۵ برابر دز استاندار و تیمار ۱۰ واکسن مزبور را در حد دز استاندارد دریافت نمودند. از ۱۵ روزگی تیمارهای ۱ تا ۸ داروهای گیاهی و شیمیایی مورد آزمایش را از طریق آب آشامیدنی دریافت نمودند. بیشترین عیار پادتن علیه برونشیت عفونی در تیمار کنترل منفی و کمترین در تیمار ایمونوفین مشاهده شد ($p > ۰/۰۵$). در دوره ۴۱ روزگی بیشترین عیار پادتن بین داروهای مورد استفاده در تیمار آنتی بیوفین و منتوفین مشاهده گردید ($p > ۰/۰۵$). تیمار آنزوفین در هر دو دوره ۳۶ و ۴۱ روزگی بالاترین عیار پادتن را علیه ویروس نیوکاسل نشان داد ($p > ۰/۰۵$). بیشترین و کمترین پاسخ به تزریق فیتوهماگلوتینین به ترتیب در تیمارهای ایمونوفین و کنترل مثبت مشاهده شد ($p < ۰/۰۵$). بیشترین نسبت هتروفیل به لیمفوسایت در تیمار ایمونوفین مشاهده گردید ($p < ۰/۰۵$). در بین داروهای گیاهی منتوفین، آنتی بیوفین و مرزه در کاهش آسیب‌های تنفسی موثرتر واقع شدند و این اثر با اثر داروهای شیمیایی انروفلوکساسین و برم هگزین در کاهش آسیب‌های تنفسی برابر بود.

کلمات کلیدی: داروهای گیاهی، آسیب های تنفسی، سیستم ایمنی، جوجه گوشتی

www.SID.ir

Archive of SID

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 108 pp: 20-27

Comparison effects of some chemical and herbal commercial medicines on the immune system and reduce respiratory damage in chickens challenged with infectious bronchitis vaccine

By: Hatamzadeh Esfahani, N., Ph.D. Student, Department of Poultry Science, Tarbiat Modares University.
Rahimi, Shaban., (Corresponding Author), Professor, Department of Poultry Science, Tarbiat Modares University.
Gharagozloo, M.J., Professor, Department of Pathology, Veterinary Faculty of Tehran University.
Yakhkashi, S., Ph.D. Student, Department of Poultry Science, Tarbiat Modares University.

Received: October 2013 Accepted: April 2014
E-mail:rahimi_s@modares.ac.ir

A research was conducted to evaluate the effects of some commercial herbal and chemical medicines on immune system and improve the respiratory disorders in broiler chickens. Four hundred and fifty day old female broiler chicks (strains of Arian) were divided into experimental groups: 1) Anzofin®, 2) Antibiofin®, 3)Immunofin®, 4) Bronkofin®, 5) savory (Zagrol®), 6) Mentofin®, 7) Enrofloxasin®, 8) Bromhexin®, 9) Positive control, and 10) Negative control. On day 14, treatments 1 to 9 were received IB- 4/91vaccine 5 times greater than the standard dose and Negative control received the standard dose of IB vaccine. Treatments 1 to 6 received herbal medicines via drinking water from day 15 until day 42. Treatment 7 and 8 were received chemical medicines from day 15 to day 19. The highest and lowest antibody titter against infectious bronchitis was observed in Negative control and Immunofin, respectively (P>0.05). On 41 days of age there was significant difference between treatments Antibiofin® and Mentofin® (P>0.05). Anzofin® treatment showed highest antibody titer against Newcastle virus in both periods of 36 and 42 day old (P>0.05). The highest and lowest response to injection of phytohemaglotinin was observed in Immunofin® and Positive control, respectively (P<0.05).The highest H/L ratio was observed in positive control (P<0.05). About improving the respiratory disorders among herbal medicine the influence of Mentofin®, Antibiofin® and savory was better than others and was the same with influence of Enrofloxasin® antibiotic and Bromhexin®.

Key words: Herbal medicine, Respiratory disorders, Immune system, Broilers

مقدمه

با گسترش صنعت پرورش طیور در جهان وقوع بیماری های عفونی به مراتب افزایش یافته و اغلب خسارات سنگینی را به این صنعت وارد آورده است. تا به امروز واکسیناسیون به عنوان بهترین روش پیشگیری از بیماری های عفونی مورد توجه بوده اما اغلب تنوع ژنتیکی و سرعت تغییر ویروس ها از ایجاد یک محافظت کامل جلوگیری می کند. از طرفی با وضع قوانین ممنوعیت استفاده از آنتی بیوتیک ها به عنوان محرک رشد یا به عنوان دارو و افزایش نگرانی ها در مورد بی خطر بودن مواد غذایی و آلودگی های محیط زیستی، شناسایی جایگزین هایی که به عنوان محرک رشد عمل کرده، سیستم ایمنی را تقویت نمایند و در درمان بیماری ها موثر باشند، ضروری است (Khosravinia and Razani, 1388). توانایی طیور برای مقابله با بیماری های عفونی، به عملکرد صحیح، به موقع و هماهنگ سیستم ایمنی بستگی دارد. اگرچه تضعیف سیستم ایمنی در طیور بسیار رایج است و می تواند ناشی از عوامل بسیاری مانند عفونت های ویروسی تحت کلینیکی نظیر ویروس رتیکلواندوتلیوز، مارک، لوکوز، کم خونی عفونی ماکیان و رئوویروس پرندگان (Cui, Meng, Jiang, Wei, 2006)، استفاده نادرست از آنتی بیوتیک ها و یا انتخاب ژنتیکی برای بهبود صفات مربوط به عملکرد باشد (Siegel and Dunnington, 1987). طی دو دهه اخیرگرایش به استفاده از گیاهان معطر و اسانس های فرار در جیره حیوانات به صورت چشمگیری افزایش یافته است. چنین محصولاتی علاوه بر مزایای رایج آنتی بیوتیک ها دارای مزایای دیگری نیز می باشند مانند این که در بافت‌ها باقی نمی‌مانند و بی خطر هستند (Varel and Miller, 2000) . پلی ساکاریدهای گیاهی(Chen et al., 2002) ساپونین‌ها (Kamel, 2005) و فلاونوئیدها (Dakora, 1995) ترکیبات تقویت کننده سیستم ایمنی هستند. همچنین گیاهان دارویی می توانند به طور گسترده در درمان بیماری های عفونی و غیر عفونی مورد استفاده قرار گیرند. استفاده از اسانس ها و عصاره-های گیاهی در درمان بیماری های التهابی نظیر آلرژی، آسم، رماتیسم و ورم مفاصل نیز گسترش جهانی یافته است (Leonard, 2004). هدف از این تحقیق مقایسه اثر داروهای گیاهی منتوفین، آنزوفین، آنتی بیوفین، ایمونوفین، زاگرول و داروهای شیمیایی انروفلوکساسین و برونکودیلاتاتور برم هگزین بر بهبود آسیب های تنفسی، سیستم ایمنی و ماندگاری جوجه های گوشتی چالش شده با واکسن بیماری برونشیت عفونی بود.

مواد و روش ها

طرح و حیوانات آزمایشی

تعداد ۴۵۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه ماده سویه تجاری آرین در قالب طرح آزمایشی کاملا تصادفی شامل ۱۰ تیمار، ۳ تکرار و ۱۵ قطعه جوجه در هر تکرار انجام شد. دو تیمار به عنوان تیمارهای شاهد مثبت و منفی در نظر گرفته شدند که آب آشامیدنی بدون هرگونه افزودنی مصرف نمودند. در ۱۴ روزگی تیمارهای ۱) آنزوفین، ۲) آنتی بیوفین، ۳) ایمونوفین، ۴) برونکوفین، ۵) اسانس مرزه، ۶) منتوفین، ۷) انروفلوکساسین، ۸) برم

www.SID.ir

Archive of SID

هگزین، ۹) شاهد مثبت، واکسن برونشیت ۴/۹۱ را، ۵ برابر دز استاندارد و تیمار ۱۰) شاهد منفی دز استاندارد واکسن مزبور را به روش قطره چشمی دریافت نمودند. از ۱۵ روزگی تمام تیمارها به غیر از منتوفین داروهای گیاهی و شیمیایی مورد آزمایش را به میزان ۱ لیتر در هر ۱۰۰۰ لیتر از طریق آب آشامیدنی دریافت نمودند و تیمار منتوفین دارو را به میزان ۲۵۰ میلی لیتر در ۱۰۰۰ لیتر دریافت نمود. داروهای برم هگزین و انروفلوکساسین از ۱۵ روزگی به مدت ۴ روز و سایر داروها از ۱۵ روزگی تا پایان دوره به آب آشامیدنی افزوده گردیدند. داروهای گیاهی آنزوفین، آنتی بیوفین، ایمونوفین و برونکوفین از شرکت زردبند تهران خریداری شد. داروی زاگرول از شرکت خرمان تهیه گردید. تمام داروهای فوق با رعایت کلیه دستورالعمل های این شرکت ها مصرف شدند. در ۴۲ روزگی از هر پن یک قطعه جوجه انتخاب و این جوجه ها در یک محفظه بسته با استفاده از گاز CO_2 به روش انسانی کشته شدند. سپس نمونه‌ای از کل نای هر جوجه در فرمالین ۱۰٪ برای انجام آزمایش های آسیب شناسی به دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ارسال شد.

سیستم ایمنی

پاسخ پوست به فیتوهماگلوتینین

در سن ۴۱ روزگی دو پرنده از هر تکرار، به طور تصادفی انتخاب شدند. برای تعیین پاسخ به تزریق فیتوهماگلوتینین از روش Corrier و Deloach (1990) استفاده گردید. ابتدا پای راست پرنده با اتانول ۷۰ درصد تمیز گشته و سپس ضخامت بین چین پوستی انگشت سوم و چهارم پنجه پا با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۱ میلیمتر اندازه گیری شد. ۰/۱ میلی لیتر (۱۰۰ میکروگرم) محلول فیتوهماگلوتینین در آب نمک استریل ۸۵٪ داخل پوست تزریق گردید. بعد از ۲۴ ساعت محل تزریق دوباره اندازه گیری و پاسخ به افزایش حساسیت بازوفیل های پوستی به وسیله اختلاف ضخامت پوست، قبل و ۲۴ ساعت بعد از تزریق از فرمول زیر تعیین شد.

TS= ضخامت پوست قبل از تزریق محلول سالین- افزایش ضخامت پوست بعد ار تزریق محلول سالین

TP= ضخامت پوست قبل از تزریق محلول فیتوهماگلوتینین- ضخامت پوست بعد از تزریق محلول فیتوهماگلوتینین

ضخامت اولیه چین پوستی÷{ TS - TP } ==پاسخ به تزریق فیتوهماگلوتینین

پاسخ به SRBC

در روزهای ۲۱ و ۳۵ به سه قطعه پرنده از هر پن مقدار ۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفند ۵ درصد شسته شده در بافر فسفات استریل، از طریق عضله سینه تزریق گردید. سپس ۶ روز پس از هر بار تزریق گلبول قرمز (روزهای ۲۷ و ۴۱)، از همان پرنده ها از طریق ورید بال حدود یک میلی لیتر خون گرفته شد. نمونه های خون یک شب در دمای اتاق نگهداری شدند تا سرم از لختهٔ خون جدا شود.

پاسخ به واکسن بیماری نیوکاسل

واکسن نیوکاسل در سن ۲۳ روزگی از طریق آب آشامیدنی به جوجه ها داده شد و دو هفته بعد از آن و در آخر دوره در سن ۳۶ و ۴۱ روزگی دو پرنده از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب و از طریق ورید بال حدود یک میلی لیتر خون گرفته شد. پس از جدا شدن سرم از لخته خون نمونه ها به منظور تعیین عیار پادتن علیه ویروس نیوکاسل به آزمایشگاه فرستاده شد و عیار پادتن علیه ویروس نیوکاسل توسط روش HI تعیین گردید (Fu and Liu, 1997).

وزن ارگان های لیمفوئیدی

در ۴۸ روزگی نسبت درصد وزن طحال و بورس به وزن بدن (وزن نسبی) به عنوان ارگان های سیستم ایمنی اندازه گیری شد.

درصد ماندگاری (زنده مانی)

تعداد پرندگان تلف و حذف شده – تعداد اولیه پرندگان هر گروه آزمایشی = تعداد پرندگان زنده مانده

۱۰۰×{تعداد اولیه ÷ تعداد پرندگان زنده مانده} = درصد ماندگاری

درجه بندی (scoring) آسیب‌های تنفسی (نای و محل دو شاخه شدن نای)

جدول ۱- میزان تاثیر تیمارهای آزمایشی درکاهش آسیب های دستگاه تنفسی در محل دو شاخه شدن نای از نظر کیفی

نام تیمار	دز واکسن	داروی مورد تجویز	شدت ضایعات در نای	نمره
کنترل منفی	×۱	-	اندک	۲/۳۴
کنترل مثبت	×۵	-	نسبتا شدید	۲/۳۴
انروفلوکساسین	×۵	انروفلوکساسین	خفیف	۲/۳۴
آنزوفین	×۵	آنزوفین	نسبتا شدید	۲/۶۷
مرزه	×۵	مرزه	خفیف	۳/۳۴
آنتی بیوفین	×۵	آنتی بیوفین	خفیف	۳/۰۰
ایمونوفین	×۵	ایمونوفین	نسبتا شدید	۳/۰۰
برونکوفین	×۵	برونکوفین	نسبتا شدید	۲/۶۷
برم هگزین	×۵	برم هگزین	خفیف	۲/۳۴
منتوفین	×۵	منتوفین	خفیف	۲/۶۷

www.SID.ir

Archive of SID

اثر تیمارهای آزمایشی روی نمونه های نای پس از بررسی‌های هیستوپاتولوژی در جدول ۱ ارائه شده است. میزان آسیب های تنفسی به صورت کیفی در پنج سطح (۰، ۱، ۲، ۳، ۴) قرار گرفت.

۰. نرمال بافت شناسی طبیعی نای و نایژه

۱. تغییرات اندک، افزایش اندک در تعداد سلول های گابلت و غدد موکوسی، از دست رفتن کانون های کوچکی از مژک های بافت اپی تلیال، ضخامت اپی تلیوم نرمال، اپی تلیوم یکپارچه، پرخونی و ادم.

۲. تغییرات خفیف، افزایش در تعداد گابلت سل ها و غدد موکوسی، کانون های بزرگ و کوچکی از تخریب و از دست رفتن بافت اپی تلیال، افزایش اندک در ضخامت بافت اپی‌تلیوم، اپی تلیوم یکپارچه، افزایش تعداد سلول‌های لیمفوئیدی مابین مخاط و بافت همبند زیر مخاط، افزایش تعداد سلول‌های لیمفوئیدی موجود در بین سلول های اپی‌تلیال (T لیمفوسیت‌ها) پر خونی و ادم.

۳. تغییرات نسبتا شدید، افزایش چشمگیر در تعداد گابلت سل ها و ترشحات موکوسی، گاهی کیست های ریز در بین سلول های اپی تلیال، کانون‌های بزرگ تخریب و از بین رفتن مژک‌های سلول های اپیتلیال. کانون‌هایی از هیپرپلازی سلول های اپی تلیال کانون هایی از تخریب و حذف کانونی سلول های اپیتلیال، افزایش تعداد سلول های لیمفوئیدی مابین مخاط و زیر مخاط، افزایش مشخص تعداد سلول‌های لیمفوئیدی در بین سلول‌های اپی‌تلیال همراه با گرانولوسیت‌ها، حضورگرانولوسیت‌ها به صورت تجمعات کانونی و منتشر در پیرامون نایژه ها، پرخونی و ادم چشمگیر.

۴. تغییرات شدید، از دست رفتن وسیع مژک‌های سلول‌های اپی‌تلیال، هیپرپلازی کانونی سلول‌های اپی‌تلیال و تبدیل این سلول‌ها به صورت سلول‌های مکعبی کوتاه، تخریب سلول‌های اپی تلیال، مخاط نای و نایژه، افزایش نفوذ چشمگیر سلول های لیمفوئیدی و گرانولوسیت ها در بین سلول‌های مخاط و بافت همبند زیر مخاط، پر خونی شدید، ادم و خونریزی، وجود ترشحات متشکل از سلول‌های کنده شده، لکوسایت‌ها و گلبول‌های قرمز در داخل مجاری نای و نایژه.

آنالیز آماری

به منظور تجزیه و تحلیل داده ها از طرح کاملا تصادفی استفاده شد. داده های آزمایش با استفاده از روش GLM آنالیز شد. مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن و در سطح معنی داری P<۰/۰۵ انجام شد.

نتایج

سیستم ایمنی

میزان اثر تیمارهای آزمایشی بر سیستم ایمنی در جداول ۲ و ۳ آمده است. عیار پادتن علیه واکسن بیماری برونشیت عفونی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). اما بیشترین عیار پادتن در تیمار کنترل منفی و کمترین در تیمار ایمونوفین مشاهده شد. مقادیر ذکر شده برای نوبت اول بیان کنندهٔ پاسخ ایمنی اولیه و مقادیر نوبت دوم خونگیری مربوط به پاسخ ایمنی ثانویه می باشند. عیار پادتن علیه SRBC در نوبت دوم بین تیمارها تفاوت معنی دار نشان داد (P>۰/۰۵). در مورد SRBC بالاترین پاسخ ایمنی در نوبت اول در تیمار برم هگزین و در نوبت دوم در بین داروهای مورد استفاده در تیمار آنتی بیوفین و منتوفین مشاهده شد. بالاترین پاسخ ایمنی در نوبت اول و دوم در مقابل واکسن ویروس نیوکاسل

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی اندام های لیمفوئیدی، پاسخ سیستم ایمنی و درصد ماندگاری جوجه های گوشتی

تیمارها	بورس*	طحال*	پاسخ پوست به فیتوهماگلوتینین (mm)	درصد هتروفیل به لنفوسیت	درصد ماندگاری
آنزوفین	۰/۱۵۶	۰/۱۱۱	۰/۲۱۰^{ab}	۱ab/۵	۸۹/۰۰
ایمونوفین	۰/۱۳۶	۰/۱۱۳	۰/۳۲۰^{a}	۰b/۹	۹۱/۰۰
آنتی بیوفین	۰/۱۲۹	۰/۱۴۲	۰/۳۰۰^{a}	۱b/۰	۸۴/۰۰
برنکوفین	۰/۱۳۲	۰/۱۴۳	۰/۳۱۳^{a}	۱b/۲	۸۹/۶۷
برم هگزین	۰/۰۹۸	۰/۱۴۳	۰/۲۶۸^{a}	۱b/۱	۸۹/۶۷
انروفلوکساسین	۰/۱۵۰	۰/۰۹۵	۰/۱۸۵^{ab}	۱b/۳	۸۵/۶۷
منتوفین	۰/۱۰۰	۰/۰۹۸	۰/۲۹۲^{a}	۱b/۲	۸۶/۳۴
مرزه	۰/۲۰۳	۰/۱۵۱	۰/۱۶۱^{ab}	۱b/۲	۹۱/۶۷
کنترل مثبت	۰/۱۳۲	۰/۱۱۱	۰/۰۸۷^{b}	۱a/۹	۷۷/۶۷
کنترل منفی	۰/۱۱۷	۰/۰۹۸	۰/۲۲۵^{ab}	۱a/۹	۸۸/۰۰
SEM	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۱۷	۰/۰۷	۱/۱۴
P-value	۰/۰۹	۰/۱	/۰۰۶	۰/۰۰۱	۰/۲۰

ab میانگین ها با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<۰/۵۰).
***گرم بر ۱۰۰ گرم وزن بدن.**

www.SID.ir

Archive of SID

نیز در تیمار آنزوفین مشاهده شد. پایین ترین پاسخ ایمنی علیه SRBC و ویروس بیماری نیوکاسل در هر دو نوبت اول و دوم در تیمار کنترل مثبت مشاهده شد (جدول ۲). از نظر وزن نسبی بورس فابریسیوس و طحال بین تیمارها تفاوت معنی دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵). پاسخ به افزایش حساسیت بازوفیل های پوستی (تزریق فیتوهموگلوتنین) بین تیمارها تفاوت معنی دار نشان داد (P<۰/۰۵). ایمونوفین و سپس برونکوفین بیشترین، کنترل مثبت و سپس مرزه کمترین پاسخ را نشان دادند. نسبت هتروفیل به لیمفوسیت بین تیمارها تفاوت معنی دار نشان داد (P<۰/۰۵). بیشترین نسبت در تیمارهای کنترل مثبت و سپس کنترل منفی مشاهده گردید که با سایر تیمارها به جز آنزوفین تفاوت معنی داری داشتند. کمترین نسبت نیز در تیمار ایمونوفین مشاهده شد.

درصد ماندگاری

درصد ماندگاری بین تیمارها تفاوت معنی دار نداشت (P>۰/۰۵) اما بیشترین درصد ماندگاری در تیمار مرزه و سپس ایمونوفین و کمترین در تیمار کنترل مثبت مشاهده شد.

کاهش آسیب‌های تنفسی

با توجه به جدول ارایه شده این طور نتیجه گیری می شود که حتی در تیمار کنترل مثبت ضایعات به صورت شدید (نمره ۴) مشاهده نشد همچنین در هیچ کدام از تیمارها حتی تیمار کنترل منفی که دز استاندارد واکسن را دریافت نموده بود بافت شناسی طبیعی نای و نایژه مشاهده نشد. در تیمارهای کنترل مثبت، آنزوفین، ایمونوفین و برونکوفین ضایعات به صورت نسبتا شدید (نمره ۳) و در تیمارهای منتوفین، آنتی بیوفین، مرزه، آنتی بیوتیک انروفلوکساسین و برم هگزین ضایعات به صورت خفیف (نمره ۲) مشاهده گردید. بنابراین داروهای گیاهی آنتی بیوفین، مرزه و منتوفین در کاهش ضایعات تنفسی از سایر داروهای گیاهی موفق تر بودند و این اثر با اثر آنتی بیوتیک انروفلوکساسین و برم هگزین در بهبود ضایعات برابر بود؛ و داروهای گیاهی تجاری ایمونوفین، برونکوفین و آنزوفین در مقایسه با سایر تیمارها در کاهش ضایعات موفق نبودند.

بحث

تحریک یا تقویت سیستم ایمنی به فعال سازی اجزای سیستم ایمنی در بدن توسط برخی عوامل خارجی برمی گردد که منجر به ایجاد یک سد دفاعی بهتر در برابر میکروارگانیسم های عفونت زا، سم ها و سلول های سرطانی می شود. این عوامل سد و مکانیسم های دفاعی بدن را تقویت می کنند و می توانند به منظور تقویت پاسخ های ایمنی غیر فعال در انسان و حیوانات مورد استفاده قرار گیرند. (Awaad et al., 2000a,b) بعد از واکسیناسیون رسیدن به حداکثر سطح ایمنی به عوامل زیادی نظیر سلامت حیوان وابسته است. احتمالا عدم استفاده از هر گونه داروی گیاهی یا شیمیایی در تیمار شاهد مثبت منجر به کاهش سطح سلامت در این تیمار و مشاهده کمترین عیار پادتن علیه SRBC و ویروس نیوکاسل در پاسخ ایمنی اولیه و ثانویه شده است. مشاهده کمترین درصد ماندگاری نیز در این تیمار تائید کننده کاهش سطح سلامت و ماندگاری آن است. در بین داروهای مورد استفاده بیشترین عیار پادتن علیه واکسن بیماری برونشیت عفونی در تیمار آنزوفین مشاهده شد.

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین تیترپادتن علیه ویروس نیوکاسل و گلبول قرمز خون گوسفند

تیمارها	برونشیت	نیوکاسل		SRBC	
	۴۱ روزگی	پاسخ اولیه	پاسخ ثانویه	پاسخ اولیه	پاسخ ثانویه
آنزوفین	۲۵۷/۰۰	۴/۳۴	۶/۳۴	۲/۳۴	۵/۰^{ab}
ایمونوفین	۱۸۰/۳۳	۳/۳۴	۵/۳۴	۲/۳۴	۴/۶۷^{ab}
آنتی بیوفین	۲۱۳/۶۷	۳/۶۷	۵/۳۴	۲/۳۴	۵/۶۷^{a}
برنکوفین	۲۰۲/۰۰	۲/۶۷	۶/۰۰	۲/۶۷	۴/۶۷^{ab}
برم هگزین	۱۹۷/۰۰	۳/۰۰	۵/۰۰	۳/۳۴	۵/۳۴^{ab}
انروفلوکساسین	۲۰۸/۰۰	۳/۶۷	۵/۶۷	۳/۰۰	۵/۳۴^{ab}
منتوفین	۲۰۷/۶۷	۲/۶۷	۶/۰۰	۳/۰۰	۵/۶۷^{a}
مرزه	۱۸۶/۰۰	۲/۳۴	۴/۶۷	۲/۶۷	۴/۶۷^{ab}
کنترل مثبت	۲۱۸/۳۳	۲/۰۰	۴/۰۰	۲/۳۴	۴/۳۴^{b}
کنترل منفی	۲۹۶/۶۷	۳/۰۰	۵/۶۷	۲/۶۷	۵/۶۷^{a}
SEM	۱۰/۱۳	۰/۱۹	۰/۲۱	۰/۱۱	۰/۱۲
P-value	۰/۲۹	۰/۱۹	۰/۳۳	۰/۴۶	۰/۰۴

ab میانگین ها با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی دار می باشند (P<۰/۵۰).

www.SID.ir

Archive of SID

به طور کلی می توان نتیجه گرفت که در این تحقیق داروهای گیاهی مورد استفاده بخصوص داروهای گیاهی ایمونوفین (به طور معنی دار)، آنزوفین و مرزه (به طور غیر معنی دار) نسبت به سایر داروها در تقویت سیستم ایمنی موثر بودند. داروی تجاری ایمونوفین عصاره گیاه سرخارگل (Purple coneflower) با نام علمی *Echinacea purpurea* است. سرخارگل متعلق به گروه ترکیبات فیتوژنیک تقویت کننده سیستم ایمنی است و به عنوان مثال باعث تحریک فعالیت فاگوسیتوزی لیمفوسایت ها، تحریک فیبروبلاست ها به منظور تولید بافت های جدید، افزایش عمل دم و بازدم و افزایش تحریک لکوسایت ها می‌شود (World Health Organization, 1999). فعالیت های تقویت کننده سیستم ایمنی گونه اکیناسه به دلیل تاثیر ترکیبات آن از جمله: یگ گروه از الکامیدها (مانند ایزوبوتیل آمید)، مشتقات اسید کافئیک (cichoric acid, cynarin, echinacoside) ، گروهی از پلی الکن ها و پلی ساکاریدهایی مانند هتروگزیلان ها است (Schulz, Hansel, Tyler, 1998). مطالعات فارماکولوژیکی تاثیر الکامیدها، پلی الکن ها و مشتقات اسید کافئیک در تحریک عمل فاگوسیتوزی گلبول-های سفید را نشان داده است (Brinckmann, 2000). پلی ساکاریدهای گیاهی نیز به روش های مختلفی سیستم ایمنی و تعادل شبکه ایمنی نروانداوکرینی را تقویت می کنند. همچنین پلی ساکاریدهای سرخارگل ماکروفاژها را به منظور تولید IL-1، TNF-α و IFN-β تحریک می‌کنند (Guo et al., 2004). اطلاعات کافی در زمینه کاربرد سرخارگل در حیوانات اهلی بخصوص طیور در دسترس نیست اما تاثیرات استفاده متناوب از گیاه سرخارگل بر سیستم ایمنی در خوک، جوجه گوشتی و مرغ تخم گذار مشاهده شده است (Bohmer, Salisch, Paulicks, Roth, 2009). با انجام آزمایشی Aituan و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند که عصاره گیاه سرخارگل تولید IL -۲ و TNF-α، تیتر آنتی بادی در مقابل واکسن بیماری بورس عفونی و ضریب تبدیل غذایی را بهبود می بخشد. محققان نشان دادند استفاده از عصاره تخمیر شده سرخارگل از طریق آب آشامیدنی در طول دوره پرورش جوجه های گوشتی موجب بهبود عملکرد، سلامتی و سیستم ایمنی می شود (Nasir, and Grashorn 2010). همچنین توانایی عصاره های گیاهی در تقویت سدهای دفاعی ضد ویروسی که یک سیستم ایمنی پیچیده را شامل می شود مکانیسم عمل رایج است.

اخیرا تعدادی از مطالعات ویژگی های تقویت کننده سیستم ایمنی عصاره های گیاهی دارای خاصیت ضد ویروسی را مورد بررسی قرار دادند. (Webster, Taschereau, Lee, Jurgens, 2006) برخی عوامل غیرژنتیکی همچون، غلظت مواد مغذی در جیره، که رشد را تحت تاثیرقرار می دهند، می توانند تظاهر ژن های مسئول بروز حساسیت ایمنی را (Rama Rao, Praharaj, Reddy, 2003) از طریق تغییر حجم تولید آنتی بادی و بلوغ سیستم ایمنی، تغییر داده یا اصلاح کنند. همچنین سیستم ایمنی سلولی پرندگان، از سلول هایی با قابلیت تقسیم سریع تشکیل شده است و برای تسهیل روند تکثیر آن ها، مواد مغذی کافی، باید در دسترس باشد (Vegad, 2002). به عنوان مثال عفونت‌های تنفسی بیشتر با کمبود ویتامین D در نوزادان رایج می شود (Barness, 1983). ویتامین‌های A، D و ۱ همه نقش تنظیم کننده سیستم ایمنی را دارند (Cook, 1991). گیاه مرزه سرشار از ویتامین های مختلف به خصوص ویتامین های ۱ و E می‌باشد این ویتامین ها نقش مهمی را در تولید آنتی-بادی و افزایش سطح آنتی بادی سرم و فعالیت فاگوسیتوزی سلول های سیستم ایمنی جوجه ها دارند (Elwinger, Berndston, Engs, Fossum, Waldenstedt, 1998, Penalver et al., 2005).

آنزوفین از مواد موثره اکالیپتوس و چندین ماده گیاهی دیگر تشکیل شده است. منوترپنوئیدهای ترکیبات آروماتیک اسانس فرار اوکالیپتوس مدت هاست به عنوان کاهنده درد، ضد التهاب، تب بر مورد استفاده قرار می گیرد و انواع تجاری آن به منظور درمان سرماخوردگی های معمولی و بهبود علایم عفونت های تنفسی در دسترس است. یکی از مهم ترین منوترپنوئیدهای اوکالیپتوس اوکالیپتول (۱و۸ سینئول) است که تولید و سنتز TNF-α ، اینترلوکین-۱β، لوکوتریین B٤ و ترومبوکسان۲B را در مونوسایت‌های خون انسان مهار می کند (Juergens, Stober, Schmidt-Schiling, Kleuver, Vetter, 1998a,b). اسانس اوکالیپتوس فعالیت عملکردی و مرفولوژیکی منوسایت های را افزایش می دهد و این خاصیت اسانس اوکالیپتوس به دلیل تحریک گیرنده های سلول های فاگوسیتیک است (Serafino et al., 2008). آزمایش بر روی افراد بیمار مبتلا به تنگی نفس فعالیت ضد التهابی اوکالیپتول را تائید کرد (Juergens et al., 1998) . در این مطالعه هر دو داروی آنزوفین و برونکوفین که محتوی ترکیبات اوکالیپتوس بودند نتوانستند تاثیری در بهبود آسیب های تنفسی داشته باشند اما منتوفین (اسانس فرار نعناع و اوکالیپتوس) در بهبود آسیب های تنفسی موفق تر بود. به طور کلی همان طور که در قسمت نتایج گفته شد در این تحقیق داروهای گیاهی آنتی بیوفین، مرزه و منتوفین (نمره ۲+) ضایعات تنفسی را در مقایسه با داروهای گیاهی برونکوفین، آنزوفین و ایمونوفین (نمره ۳+) بهبود دادند.

اولین بار فعالیت ضد ویروسی موثر مخلوطی از ترکیبات گیاهی علیه کروناویروس IBV در شرایط *in vivo* توسط Jackwood و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش شد. این محققان فعالیت ضد کروناویروسی مخلوطی از الئورزین ها و اسانس-های فرار را در شرایط *in vitro* و *in vivo* مورد بررسی قرار دادند. اعمال این مخلوط گیاهی شدت علائم کلینیکی و ضایعات را در پرندگان کاهش داد. همچنین مقدار RNA ویروسی نیز در نای کاهش یافت.Barbour (۲۰۰۶) اثر اسانس اوکالیپتوس و نعناع (منتوفین) در محافظت از سیستم تنفسی جوجه‌های گوشتی چالش دیده با *Mycoplasma gallisepticum* (عامل ایجاد کننده بیماری های مزمن تنفسی در ماکیان) و ویروس N2H9 آنفلوانزای پرندگان را مورد بررسی قرار داد. این محقق مشاهده نمود که ضایعات میکروسکپی در پرندگانی که از منتوفین استفاده کرده بودند نسبت به پرندگانی که دچار چالش شده اما از منتوفین استفاده نکرده بودند به طور معنی داری کاهش یافت. این محقق همچنین در سال ۲۰۰۵ متوجه شد که مصرف منتوفین به دنبال واکسیناسیون با ویروس بیماری نیوکاسل و ویروس بیماری برونشیت عفونی و ویروس بیماری بورس عفونی در جوجه های گوشتی موجب افزایش پاسخ های ایمنی و بهبود عملکرد می شود. اگرچه در این آزمایش هیچ گونه بهبودی در پاسخ های سیستم ایمنی ایجاد نکرد.

آنتی بیوفین عصاره گیاه آویشن باغی است. ترکیبات اصلی گیاه آویشن شامل تیمول، کارواکرول، لینالول می باشد (Bagamboula, Uyttendaele, Debevere, 2004). نشان داده شده که کارواکرول، تیمول، لینالول و اوژنول طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها را مهار می‌کنند (Hulin, Mathot,.

www.SID.ir

Archive of SID

(Mafart, Dufosse, 1998) آویشن همچنین به منظور جلوگیری از سرفه، روان کردن تجمعات مخاطی در قفسه سینه و تولید بزاق استفاده می‌شود (Barnes, Anderson,. Phillipson, 2002). دم کرده گیاه آویشن می تواند برای درمان برونشیت و سرفه مناسب باشد (Feizi and Nazeri, 2011).

گفته می شود که ترکیبات گیاهی تهیه شده از سرخارگل نیز قادرند عفونت های حاد تنفسی را در انسان (Narimanian et al., 2005) یا سگ (Reichling, Fitzi, Furst-Jucker, Bucher, Saller, 2003) درمان کنند اگرچه در این تحقیق داروی ایمونوفین نتوانست در کاهش آسیب‌های تنفسی جوجه های گوشتی موثر باشد. مشاهده کمترین درصد ماندگاری در تیمار کنترل مثبت شاید علاوه بر کاهش قوای سیستم ایمنی به دلیل شدت آسیب های تنفسی باشد. این موضوع در مورد تیمار مرزه کاملا متناقض است به طوری که بالاترین درصد ماندگاری در این تیمار شاید علاوه بر تقویت سیستم ایمنی به دلیل کاهش شدت آسیب های تنفسی باشد.

منابع مورد استفاده

1 - Aituan M., Wanyu, S., Xiaofei, N., Meng, W. and Xiuhui, Z. (2009). Effects of *Echinacea purpurea* extract on the immunological response to infectious bursal disease vaccine in broilers. Front. Agric. China, 3, 452–456.

2 - Awaad M. H.H, Sahar, A., Zouelfakar, S., Elshazly, O.A., Afify, M.A. and Shaheed, I.B (2000b). Immunomodulatory properties of inactivated *Propiobacterium granulosum* (IM-104). 1: In non-immunosuppressed chickens. J. Egypt. Vet. Med. Assoc, 60, 137-148.

3 - Awaad, M.H.H., Kutkat, M.A. and El Shobaki, F.A. (2000a). Immunopotentiation of infectious bursal disease (IBD) vaccination. Vet. Med. J. Giza, 48, 27-33.

4 - Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M. and Debevere, J. (2004). Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. Food Microbiol, 21, 33–42.

5 - Barbour, E.K. and Danker, S. (2005). Essential oils of eucalyptus and peppermint improve the homogeneity of immune responses and performance in MG.H9N2- infected broilers. J. Am. Holistic. Vet. Med. Assoc, 24, 23-27.

6 - Barbour, E.K. (2006). Evaluation of histopathology of the respiratory system in essential oil-treated broilers following a challenge with *Mycoplasma gallisepticum* and or H9N2 influenza virus. Intern. J. Appl. Res. Vet. Med, 4, 293-300.

7 - Barnes, J., Anderson, L.A. and Phillipson, J.D. (2002). Herbal Medicines. A Guide for Health care Profe Second Edition, London: Pharmaceutical Pres.

8 - Barness, L.A. (1983). Nutrition and nutritional disorders. Pages165–185 in: Nelson Textbook in Pediatrics. R. E. Behrman and V. C. Vaughn, ed. W. B. Saunders Co., Philadelphia, PA.

9 - Bohmer, M.B., Salisch, H., Paulicks, B.R. and Roth, F.X. (2009). *Echinacea purpurea* as a potential immunostimulatory feed additive in laying hens and fattening pigs by intermittent application. Livest. Sci, 122, 81-85.

10 - Chen, H.L., Li, B.T., Zhang, J.Y., Li, D.F., Chang, B.Y. and Xu, L.T. (2002). Research development on the immunomodulatory effect of polysaccharide and its mechanism. Chin. Chin. Pharmacol. Bull, 18, 249–252.

11 - Cook, M. E. (1991). Nutrition and the immune response of the domestic fowl. Crit. Rev. Poultry Biol, 3,167-189.

12 - Corrier, D. E. and Deloach, J. R. (1990). Evaluation of cell mediatted cutaneous basophil hypersensitivity in young chickens by an interdigital skin test. Poult. Sci, 69,403-408.

13 - Cui, Z.Z., Meng, S.S., Jiang, S.J. and Wei, J.P. (2006). Serological surveys of chicken anemia viruses, avian reticuloendotheliosis virus and avian reovirus infections in white meat-type chickens in China. Acta Veterinariaet Zootechnica Sinica, 37, 152–157.

14 - Dakora, F.D. (1995). Plant flavonoids: Biological molecules for useful exploitation. J. Plant Physiol. 22,87–99.

15 - Elwinger, k., Berndston, E., Engs, B., Fossum, O. and Waldenstedt. L (1998). Effect of antibiotic growth promoters and anticoccidiala on growth of *Clostridium perferingens* in the ceca and on performance of broiler chickens. Acta. Vet. Scan, 39, 433-441.

16 - Feizi, A. and Nazeri, M. (2011). The Effect of Thyme Essential Oils (Thymus Vulgaris) in the Vaccination Reactions on Broiler Chicks. Adv. Environment. Biol, 5, 1912-1915.

17 - Fu, X.Q. and Liu, Z.J. (1997).Microhemagglutination inhibition (HI) test. in Handbook of Poultry Diseases Detection. X.Q. Fu and Z.J., Liu, ed. China Agriculture University Press, Beijingm, China. P. 97.

18 - Guo, F.C., Kwakkel, R.P., Williams, B.A. and Parmentier. H.K. (2004). Effects of mushroom and herb polysaccharides on cellular and humoral immune responses of *Eimeria tenella* infected chickens. Poult. Sci, 83,1124–1132.

19 - Hulin, V., Mathot, A., Mafart, P. and Dufosse, L. (1998). Les proprieties anti-microbiennes des huilesessentielleset composes daromes. Sci. Aliments, 18, 563–582.

20 - Jackwood, M.W., Rosenbloom, R., Petteruti, M., Hilt, D.A., McCall, A.W. and Williams, S.M. (2010). Avian coronavirus infectious bronchitis virus susceptibility to botanical oleoresins and essential oils in vitro and in vivo. Virus Res, 149, 86–94.

21 - Juergens, U.R., Stober, M. and Vetter, H. (1998a). Inhibition of cytokine production and arachidonic acid metabolism by eucalyptus. (1,8 cineole) in human blood monocytes in vitro. Eur. J. Med.

www.SID.ir

Archive of SID

Res, 3, 508-510.

22 - Juergens, U.R., Stober, M., Schmidt- Schiling, L., Kleuver, T. and Vetter, H. (1998b). Anti-inflammatory effects of eucalyptol (1, 8 cineole) in bronchial asthma: inhibition of arachidonic acid metabolism in human blood monocytes ex vivo. Eur. J. Med. Res, 3, 407-412.

23 - Khosravinia, H. Razani, K. (1388). New idea about growth promoter in poultry feed. First edition. Partoe vaghe company. Iran.

24 - Klasing, K.C., Laurin, D.E., Peng, P.K. and Fry, D.M. (1987). Immunologically mediated growth depression in chicks: Influence of feed intake, corticosterone and interleukin-1. J. Nutr, 117, 1629–1637.

25 - Leonard, B. (2004). Complementary and alternative interventions in asthma, allergy and immunology. Ann Allergy, Asthma, Immun, 93, 45-54.

26 - Narimanian, M., Badalyan, M., Panosyan, V., Gabrielyan, E., Panossian, A., Wikman, G., et al. (2005). Randomized trial of a fixed combination (KanJang) of herbal extracts containing Adhatodavasica, *Echinacea purpurea* and *Eleutherococcus senticosus* in patients with upper respiratory tract infections. Phytomedicine, 12, 539–547.

27- Nasir, Z. and Grashorn, M.A. (2010a). Effects of intermittent application of different *Echinacea purpurea* juices on broiler performance and some blood parameters. Arch. Geflügelk. (in press). Malinow, M. R., P. McLaughlin, L. Papworth, C. Stafford, G.

28 - Penalver, P., Huerta, B., Borge, C., Astrorga, R.,Romero, R. and Perea, A. (2005). Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the Enterobacteriaceae family. APMIS, 113(1), 1.

29 - Rama Rao, S.V., Praharaj, N.K. and Reddy, M.R. (2003). G*E interaction between genotype and dietary levels of methionine for immune function in commercial broilers. Br. Poult. Sci,44.

30 - Reichling, J., Fitzi, J., Furst-Jucker, J., Bucher, S. and Saller, R. (2003). Echinacea powder: treatment for canine chronic and seasonal upper respiratory tract infections. Schweiz. Arch Tierh, 145, 223–231.

31 - Schulz, V., Hansel, R. and Tyler, V. (1998) Rational Phytotherapy: A Physician's Guide to Herbal Medicine. Springer-Verlag, Berlin.

32 - Serafino, A., Vallebona, P.S., Andreola, F., Zonfrillo, M., Rasi, J., Garaci, E., et al. (2008). Stimulatory effect of eucalyptus essential oil on innate cell mediated immune response.BMC Immun, 9, 17.

33 - Siegel, P.B. and Dunnington, E.A. (1987).Selection for growth in chickens. Rev. Poult. Boil, 1, 1-24.

34 - Stimpel, M., Proksch, A., Wagner, H. and Lohmann-Matthes, M.L. (1984). Macrophage activation and induction of macrophage cytotoxicity by purified polysaccharide fractions from the plant *Echinacea purpurea*. Infect Immun, 46, 845–849.

35 - Varel, V.H. and Miller, D.N. (2000).Effect of antimicrobial agents on livestock waste emissions. Curr. Microbiol, 40, 392–397.

36 - Vegad, I.L. (2002).Role of nutrients in the avian immune response. Overcoming immunosuppression in poultry. Poultry Research Information & Scientist`s Meet.

37 - Webster, D., Taschereau, P., Lee, T.D. and Jurgens, T. (2006). Immunostimulant properties of *Heracleum maximum* Bartr. J. Ethnopharmacol, 106, 360–363.

38 - World Health Organization (1999). Monographs on Selected Medicinal Plants (1999), Geneva, 1.

www.SID.ir