

## تأثير عقار الديكساميثازون ممزوجا مع لقاح النيوكاسل الحي عترة لاسوتا على الاستجابة المناعية في فروج اللحم بطريقة تلقيح الأجنة

فراس حسين كاظم      نهاد عبد اللطيف      حامد عباس حسن      إسراء إبراهيم  
كلية الطب البيطري      كلية الزراعة      كلية الطب البيطري

### الخلاصة

شملت الدراسة استخدام ٩٠ بيضة مجننة بعمر ١٨ يوما قسمت إلى ثلاثة مجاميع متساوية بواقع ٣٠ بيضة لكل معاملة. حقنت المعاملة الأولى ب ٠.١ مل من عقار الديكساميثازون الحاوي على ٠.٢ ملغم لكل بيضة ولقاح النيوكاسل الحي المغلف عترة لاسوتا بمقدار ٠.١ مل الحاوي على  $10^4 \times 10^4$  من المستضد بعمر ١٨ يوما بطريقة تلقيح الأجنة . أما المعاملة الثانية حقنت بلقاح النيوكاسل الحي المضعف عترة لاسوتا بمقدار ٠.١ مل الحاوي على  $10^4 \times 10^4$  من المستضد بنفس عمر وطريقة المجموعة الأولى . أما المعاملة الثالثة فحقنت ب ٠.١ مل من المحلول الملحي الفسيولوجي بمقدار ٠.١ مل بنفس الطريقة المذكورة آنفا واعتبرت مجموعة سيطرة . أظهرت النتائج بان عقار الديكساميثازون له تأثير سلبي على نسبة الفقس وحيوية الأفراخ بمقدار  $P \geq 0.05$  . كذلك اجري اختبار اثباط التلازن الدموي (HI) لكل المعاملات بالأعمار ( ٧ ، ١٤ ، ٢١ ) يوما حيث وجد فرق معنوي بمقدار  $P \leq 0.05$  بين المعاملة الثانية وبين المعاملات وهذا يدل إن لعقار الديكساميثازون تأثير تثبيطي للأجسام المناعية . وكذلك اجري وزن الأعضاء الداخلية (الكبد، الطحال، جراب فايبريشيا) بعمر ١٤ يوم أوضحت النتائج بان الأفراخ المعاملة بعقار الديكساميثازون (م ١) حصلت اقل وزن في جراب فايبريشيا مما يدل على انه له تأثير على تكوين الاروقات الليفية وتكوين الخلايا البائية .

### Abstract :-

This study include using 90 fertile egg at 18 days of age before hatching were divided in to three equal group 30 embryonated egg for each .the first group injected Dexamethason that dose 0.1 ml/egg contain  $10^4 \times 10^4$  Antigen in chich embryo at 18 days . the second group injected live attenuated Newcastle vaccine (Lasota strain) in dose 0.1 ml/egg contain  $10^4 \times 10^4$  Antigen .in chick embryo at 18 days .Third group (control) injected with Normal saline in dose 0.1 ml/egg at the same age and method of in first & second group – result showed the hard effect of dexamethason in hatch ability and livability ratio  $p \geq 0.05$  between The first group and another group. Heamagglutination inhibition test (HI) are used evaluated the level of immunity in Chicks vaccinated with (nbv) and chick control at (7-14.21) days the result .

Show significant differences  $p \geq 0.05$  between the second group and another group the result showed the dexamethasone suppressor effect and decrease antibody level .also weight (liver ,spleen and bursa of fibrashia) at 14 days the result explain decrease in bursa fibrashia weight in first group because the effect of dexamethason in fibroblast and B-cells .

## المقدمة :-

أجريت العديد من الدراسات التي تناولت عزل وتحديد الطبقة النسيجية المسؤولة عن تخليق الهرمونات الستيرويدية للقشرة الكظرية (corticosteroid hormones) ولم يقتصر الجهد المبذول على ذلك بل تعداه إلى التغيرات التي تحدثها في مختلف أنسجة الجسم كما تضمنت تلك الدراسات أيضا التصنيع المخبري للهرمونات والمركبات الكيماوية المشابهة لها والتي تحدث تغيرات مماثلة (Schimmer & Parker, 1996)، وقد استحوذت القشريات السكرية (glucocorticoid) التي تخلفها المنطقة الحزيمية (zona fasciculata) على نصيب كبير من هذه الدراسات والبحوث (محي الدين وجماعته، 1990)، إن اغلب الدراسات التي أجريت حول تأثير تلك الهرمونات قد اعتمدت على حيوانات مختبرية وبعض أنواع حيوانات المزرعة كالأغنام والأبقار ، إلا إن الدواجن لم تحضي بالاهتمام الكافي من لدن الباحثين لذلك فقد ارتكزت التجربة الحالية ولأول مرة على دراسة الأثر المناعي للديكساميثازون على أجنة وأفراخ الدجاج لتوصيف تلك الفترة من الحياة التي تتعدم فيها تأثيرات الاجهادات الخارجية كارتفاع أو انخفاض الحرارة والتلقيحات التي تجري بعد الفقس وغيرها ، والتي من شأنها زيادة إفراز الهرمونات الستيرويدية داخل الجسم كما استهدفت الدراسة معرفة تأثير العقار المستخدم على الأفراخ الفاقسة حديثا حيث يعمل هذا المركب على خفض عدد كريات الدم البيضاء وزيادة عدد الكريات الحمراء ( Leili & Scanes , 1998 ) .

## المواد وطرائق العمل

### أولاً:- المواد المستخدمة

- \* ٩٠ بيضة تفقيس مخضبة أختيرت بعد فحصها بجهاز فحص البيض (Candle) من مفقس اسعد للدواجن / محافظة بابل من أمات لحم سلالة روز (rose breed) ، وتم حضن البيض داخل المفقس باستخدام حاضنة نوع بيترسايم (peter sime) بلجيكي المنشأ .
- \* الديكساميثازون المنتج من قبل شركة الشرق السورية والمعبأ في ٥٠ مل بتركيز ٢ ملغم / مل .
- \* لقاح النيوكاسل الحي المضعف عترة لاسوتا من إنتاج شركة سيفا- هنكاري .
- \* كريات الدم الحمراء المغسولة وبتركيز ١% و ١٠% .
- \* عدة اختبار التلازن الدموي ((haemagglutination test (HA)
- \* عدة اختبار اثباط التلازن الدموي ((haemagglutination inhibition test (HI) .
- \* محلول الملح الفسيولوجي (normal saline) .
- \* ميزان الكتروني حساس (Siruss) .

### ثانياً:- طرائق العمل

#### ١ - حضن البيض

تم حضن البيض المخضب بدرجة حرارة ٣٧ °م ومن ثم تقسيمه إلى ثلاثة مجاميع متساوية بواقع ٣٠ بيضة لكل مجموعة حيث أعتبرت كل مجموعة معاملة تجريبية وكما يلي :-

\*المجموعة الأولى:- حقنت بـ ٠.١ مل من عقار الديكساميثازون الحاوي على ٠.٢ ملغم لكل بيضة ولفاح نيوكاسل الحي المضعف عترة لاسوتا بمقدار ٠.١ مل الحاوي على  $١٠^4 \times ٤$  من المستضد لكل بيضة بعمر ١٨ يوما من الحضن .

\*المجموعة الثانية :- حقنت بلفاح النيوكاسل الحي المضعف عترة لاسوتا بنفس المقدار والجرعة وعمر الأجنة للمجموعة الأولى .

\*المجموعة الثالثة:- حقنت بـ ٠.١ مل من المحلول الملحي الفسيولوجي بنفس الطريقة المذكورة سابقا واعتبرت مجموعة سيطرة .

## ٢- طريقة الحقن :-

تم حقن البيض المجنن بعمر ١٨ يوما من مدة الحضن لجميع المجاميع في غرفة معقمة مسبقا وبعد التأكد من حيوية الأجنة باستخدام جهاز فحص الأجنة وتحديد مركز الفتحة الهوائية الذي يمثل مكان الحقن حسب طريقة Ahmed & Sharma (٢٠٠٢) وبعد ذلك تم تعقيم المنطقة الهوائية بمحلول اليود المطهر وباستخدام الناظية تم حقن عقار الديكساميثازون بمقدار ٠.١ مل وبعد ذلك مباشرة ثم حقن اللقاح الحي المضعف عترة لاسوتا بمقدار ٠.١ مل لكل بيضة في المجموعة الأولى ،أما المجموعة الثانية فقد حقنت بلفاح النيوكاسل الحي المضعف عترة لاسوتا بمقدار ٠.١ مل لكل بيضة فقط , فيما حقنت المجموعة الثالثة (السيطرة) بالمحلول الملحي الفسيولوجي بمقدار ٠.١ مل لكل بيضة وباستخدام محاقن طبية نبيذه سعة ١ مل وبإبرة طولها ٢.٥ سم ويقطر ٢٢G (Stone, et al .١٩٩٧) حيث تم إدخال الإبرة بأكملها لضمان وصول العقار واللقاح إلى كيس الامنيون(السلى) وبعد ذلك تم تغطية الثقوب بالشمع وإرجاع البيض المحقون إلى الحاضنة وترك فيها لحين الفقس .

## ثالثا : المعايير المستخدمة :-

### ١- حساب نسبة الفقس : Hatchability Percentage

تم حساب نسبة الفقس في المجاميع الثلاثة حسب المعادلة التي ذكرها Sharma & Burmester (١٩٨٢) وكما يلي :-

عدد الأفراخ الفاقسة

$$\text{نسبة الفقس} = \frac{\text{عدد الأفراخ الفاقسة}}{100} \times 100$$

عدد البيض المخصب

### ٢- حساب حيوية الأفراخ Livability

تم حساب حيوية الأفراخ الفاقسة من عمر يوم واحد وحتى عمر ٧ أيام بعد الفقس ولجميع المجاميع وبالطريقة المعتمدة من قبل Ahmed & Sharma (٢٠٠٢)

$$\text{حيوية الأفراخ} = \frac{\text{عدد الأفراخ الكلي}}{\text{عدد الأفراخ الهالكة}} \times 100$$

### ٣- جمع عينات الدم والمصل :-

سحبت عينات الدم من الأفراخ عشوائيا ولكل المعاملات بواقع ٥ عينات لكل مجموعة وبطريقتين هما الوريد الوداجي بعمر ١٤,٧ يوما والوريد الجناحي بعمر ٢١ يوما وجمعت عينات الدم بأنابيب زجاجية سعة ١٠ مل بمقدار ٢-٤ كل عينة

ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي ٣٠٠٠ دورة / دقيقة لفصل المصل الذي جمع في أنابيب زجاجية معلمة حسب المعاملات ، وتم إجراء اختبار اثباط التلازن الدموي عليها مباشرة .

#### ٤- اختبار اثباط التلازن الدموي (HI) Heamagglutination Inhibition test اجري

اختيار اثباط التلازن الدموي في أمصال الدم طيلة فترة الدراسة وحسب طريقة بيتا (Alenxader, ٢٠٠٣) واستخدمت إطباق المعايرة (Perspex Plate) لمعرفة مستوى الأضداد في الأفراخ الملقحة طول فترة الدراسة .

#### ٥- وزن الأعضاء الداخلية :-

تم ذبح الأفراخ بعمر ١٤ يوما وواقع (٥افراخ) لكل معاملة وسجلت أوزان ثلاثة أعضاء هي الكبد (liver) والطحال (Spleen) وجراب فايبريشيا (Bursa of Fibrisious) باستخدام ميزان الكتروني حساس .

#### ٦- التحليلات الإحصائية:- تم تحليل البيانات بموجب تصميم مربع كاي (qi-squire) واستخدام طريقة

(L.S.D) لاختبار الفروقات المعنوية بين المتوسطات .

#### النتائج والمناقشة:-

##### ١- نسبة الفقس :-

يوضح جدول ١ نسبة الفقس في البيض المجنن للمعاملات التجريبية وقد اظهر التحليل الإحصائي إن المجموعة الأولى التي استخدم بها عقار الديكساميثازون مع لقاح النيوكاسيل الحي المضعف أعطت اقل نسبة فقس وذلك نتيجة التأثير السلبي لعقار الديكساميثازون على أجنة الدجاج (Rombauts, et al ١٩٩٤) كذلك ذكر الباحث Stevan وجماعته (٢٠٠١) أن الديكساميثازون يعمل على تثبيط تكاثر الخلايا التائية (T-cell Growth Factor) والخلايا البائية ( B-cells growth ) مما يؤدي إلى تثبيط مناعة الجنين ويكون عرضة أكثر للهلاك .

جدول ١ يبين تأثير حقن البيض المجنن بعمر ١٨ يوما على نسبة الفقس

المعاملات	نوع العقار	الجرعة / بيضة	عدد الأجنة / عدد البيض المحضون	نسبة الفقس %
١	عقار الديكساميثازون + لقاح حي مضعف عترة لاسوتا	(٠.٢) مل	٣٠/٢٢	٧٣
٢	لقاح نيوكاسل الحي مضعف عترة لاسوتا	(٠.١) مل	٣٠/٢٧	٩٠
٣	محلول الملحي الفسيولوجي	(٠.١) مل	٣٠/٢٧	٩٠

##### ٢- حيوية الأفراخ

يوضح جدول ٢ حيوية الأفراخ للمعاملات التجريبية الثلاثة خلال الأسبوع الأول بعد الفقس ، حيث أظهرت نتائج تقويم حيوية الأفراخ بعد الفقس وجود تفوق معنوي بمقدار ( $p \leq 0.05$ ) في المجموعة الأولى حيث أعطت أعلى

نسبة هلاكات وقد يرجع ذلك إلى احتمال مهاجمة الأفراخ من قبل البكتريا (Dobbert, *et al* ١٩٩٦) أو إلى التأثير التثبيطي لعقار الديكساميثازون على الارومات في أفرا (Rombauts, *et al*, ١٩٩٤) وقد تزامن ذلك مع تسجيل أعلى معدل للهلاكات . أما المجموعة الثانية فقد سجلت فيها حالة هلاكات واحدة وقد يرجع ذلك إلى مرض التهاب السرة أو لردة الفعل العكسية للقاح الحي المضعف على صحة الأفراخ بعد الفقس (٢٠٠٥، Oldoni, *et al*)

جدول ٢ حيوية الأفراخ في المجاميع التجريبية خلال الأسبوع الاول بعد الفقس

المعاملات	عدد الأفراخ الكلي / عدد الأفراخ الهالكة	النسبة المئوية %
١	٣ / ٢٢	٧٣.٣
٢	١ / ٢٧	٩٦
٣	٠ / ٢٧	١٠٠

### نتائج اختبار اثباط التلازن الدموي HI

يوضح جدول ٣ معدل معيار الأضداد لاختبار اثباط التلازن الدموي بالأعمار المختلفة ، حيث أظهرت نتائج تقييم الاستجابة المناعية بواسطة الاختبار الذي اجري على الأفراخ بعمر ٢١,١٤,٧ يوما تفوق معنوي بمقدار ( $p \leq 0.05$ ) لمعدل معيار الأضداد في أفراخ المعاملة الثانية بالمقارنة مع المعاملات الأخرى وقد يرجع ذلك إلى إن التلقيح بالأجنة في عمر ١٨ يوما من الحضان أعطى مناعة مبكرة وقد وجد Ahmed & Sharma (٢٠٠٢) نتائج مماثلة إذ لاحظا ان التلقيح بالأجنة بعمر ١٨ يوما حفز الاستجابة المناعية المتخصصة خلال بضعة أيام بعد إعطاء اللقاح .

أما أفراخ المعاملة الأولى فقد سجلت اقل معدل لمعيار الأضداد وذلك بسبب تأثير عقار الديكساميثازون حيث يعمل على تحويل الخلايا التائية للمفاوية المساعدة (Helper-T-lymphocytes) نوع Th١ إلى خلايا Th٢ فضلا عن تثبيط Interleukin-٢ (IL-٢) وتحوله إلى (IL-٤) والذي يعمل بدوره على تنشيط إنتاج الكلوبولينات المناعية من نوع (Igm,IgG) والخلايا القاتلة (Natural Killer) (Daivson, *et al*. ٢٠٠٦) كما إن معاملة أفراخ الدجاج بالديكساميثازون يؤدي إلى انخفاض أعداد الخلايا للمفاوية وخلايا وحيدة النواة وزيادة في خلايا كريات الدم الحمراء وهذا ناتج أما عن تكسر الخلايا للمفاوية أو هجرتها من الجهاز الدوراني إلى الأعضاء للمفاوية الثانية (Smits, ١٩٩٩) .

أما المعاملة الثالثة (السيطرة) فقد لوحظ حصول انحدار في مستوى الأضداد بالأعمار (٢١,١٤,٧) يوما عما هو عليه بعمر ٧ أيام ليصل إلى أدنى مستوى له بعمر ٢١ يوما وقد ذكر Alexander (٢٠٠٣) بان الأضداد المتكونة بعمر يوم واحد تنخفض بتقدم العمر وتصل إلى أدنى مستوى لها بعمر (٢١,١٤) يوما اعتمادا على كمية الأضداد الأمية Maternal Immunity .

جدول (٣) يوضح معدل معيار الأضداد لاختبار اثبات التلازن الدموي (HI) بالأعمار المختلفة ±  
الخطأ القياسي

المعاملات	معدل معيار الأضداد ± الخطأ القياسي بعمر ٧ أيام	معدل معيار الأضداد ± الخطأ القياسي بعمر ١٤ يوما	معدل معيار الأضداد ± الخطأ القياسي بعمر ٢١ يوما
١	٢٨ ±B ٤.٠٠	٢٦ ±B ١٣.٢٦	١٨ ±B ١.٣٨
٢	٦٠ ±A ٢٤.٦٢	٣١.٥ ±A ١٢.٢٦	٣٦ ±A ١٠.٠٦
٣	٤٤ ±AB ١٢.٠	٢٧ ±B ٤.٠	١٢ ±B ٢.٣٠

الحروف المتشابهة تعني عدم وجود فرق معنوي والحروف المختلفة تعني وجود فرق معنوي

### ٣- وزن الأعضاء الداخلية :-

يوضح جدول ٤ معدل وزن الأعضاء الداخلية (الكبد، الطحال، جراب فايبريشيا) لأفراخ المعاملات التجريبية الثلاثة حيث أظهرت النتائج وجود تفوق معنوي ( $p \leq 0.05$ ) وزن جراب فايبريشيا (Bursa Weight) في المعاملة الأولى وبقية المعاملات حيث سجلت اقل معدل وزن فيها وقد لاحظ Corrier وجماعته ١٩٩١ وجود انخفاض معنوي ( $p \geq 0.05$ ) في مستوى في وزن جراب فايبريشيا وكذلك في عملية تكوين الأرومات المسؤولة عن تكوين الخلايا التائية والخلايا البائية في الأفراخ المعالجة الديكساميثازون كما أشار (٢٠٠٣) Aenuuanich&Chinrasri إلى وجود انخفاض معنوي في وزن جراب فايبريشيا وغدة التوتة (Thymus Weight) في الأفراخ المعاملة الديكساميثازون أما بالنسبة لمعدل وزن الكبد والطحال فلم يظهر التحليل الإحصائي للبيانات وجود فروقات معنوية بين معاملات التجربة.

جدول ٤ يوضح معدل أوزان الأعضاء الداخلية (الكبد، الطحال، جراب فايبريشيا) للمعاملات المختلفة (غم)

المعاملات	الكبد	الطحال	جراب فايبريشيا
١	١٠.٤٧٢	٠.٢١٥١	٠.٣٨٧١
٢	١٠.٥٣٥	٠.٢٢٦٢	٠.٦١٨٥
٣	١٠.٦١٢	٠.٢٤٣٨	٠.٥٤١٣

### الاستنتاجات والتوصيات :-

أظهرت نتائج التجربة مايلي :-

- \* إن لعقار الديكساميثازون دور سلبي على نسبة الفقس وحيوية الأفراخ في الأجنة والأفراخ الفاقسة .
- \* إن لعقار الديكساميثازون دور فعال في تثبيط مناعة فروج اللحم من خلال خفض معدل معيار الأضداد المثبطة للتلازن الدموي

\*أدى عقار الديكساميثازون إلى خفض وزن جراب فايبريشيا في الأفراخ المعطاة هذا العقار .  
وبناء على ما تقدم فأن تقليل الإجهاد على فروج اللحم سيكون له دورا مهما من خلال خفض مستوى  
المهرمونات الستيرويدية (القشرانيات) ولذلك قد يكون من المفيد عدم إعطاء أدوية تحتوي على احد أنواع  
المستحضرات في دجاج اللحم وأمات البيض .

## المصادر

### المصادر العربية

محي الدين ، خير الدين يوسف ، وليد حميد وتوحله ، سعد حسين (١٩٩٠) .  
فلسجة الغدد الصم والتكاثر في الثدييات . دار الحكمة للطباعة والنشر / الموصل .

### المصادر الأجنبية

- Aenguanich ,w-and chinrasri,O.(٢٠٠٣)-Effect of dexamethasone on differential white blood cell count and hetrophil lymphocyte ratio in Japanes quails. J.SCI-technol.,٢٥ (٢):١٨٣-١٨٩.
- Ahmed, J and Sharma ,J.M.(٢٠٠٢) . Evaluation of modified live virus vaccine administered in ovo to protect chickens against Newcastle . Am .J. vet Res . ٥٣: ١٩٩٩ -٢٠٠٤ .
- Alexander , D.J.(٢٠٠٣) . Newcastle disease and other paramyxovirus .Pneumvirus .In: Disease of Poultly , ١١<sup>th</sup> Eds . by Calnek ,B.W. , saif ,Y.M. ; Medougald ,L.R. and swayne D.E .IO Wastate press ,pp .٦٤ - ٨١.
- Corrier , D.E.; Elissalde , M.H.; Ziprin ,R.L. and Deloach , J.R.(١٩٩١) .Effect of Immuno suppression with cyclophosphamide cyclosporine , or dexamethasone on salmonella colonization of broiler chicks . Avain .Dis - ٣٥(١) :٤٠-٤٥.
- Davison ,T.F.; Morris ,T.R. and Payne , L.N.(٢٠٠٦) .Poultry Immunology .١st .Ed . Curfax Publishing company .U.K.
- Dobbert , C.B.; lochmiller ,R.L.; Mortan , R.J. and powell ,K.C.(١٩٩٦) .Apathogenic. Glucocorticoid induced inhibition of T-CELL growth Factor Production .J. Immunol .;١٢٣(٤) : ١٦٢٤-١٦٣١.
- Leili, S.and scans,G.G.(١٩٩٨).the Effect of glucocorticoids (dexamethasone) on in sulin -like growth factor-I,IGF-binding protein ,and growth in chickens .Biolgy and medicine.vol.٢١٨,٣٢٩-٣٣٣.
- Oldani, I.; Brown ,C.C.; king ,D . J.; Samal ,S.(٢٠٠٥) . the use of situ hybridization and Immuno histochemistry to study the pathogenesis of various Newcastle chicken egg .
- Rombauts , L .;Vanmont fort ,D.; Berghman, L.R.; Decuprtr, E.(١٩٩٤).Contribution of the Fetal adrenal to circulating Immune active inhibin in the chicken embryo .Biol. roper ,٥١(٥): ٩٢٦-٩٣٣.

- Schimmer ,P.B. and Parker ,K.L.(1996) . Adreno corticotropic Hormone ; Adriano cortical steroid and their synthetic Analogs ; inhibitors of synthesis and action of Adreno cortical hormones .In : Good man and Gilmans the pharmacological Basic of the therapeutics .9th .Ed . Hardman , J.G.; and limbird , L.E .p.p 1409 - 1480.
- Sharma, J.M. and Burmester, B.R.(1982).Resistance to Mareks disease at hatching in chickens vaccinated as embryos with turkey herpes virus .Avian Dis 26:134-149.
- Smits , J.E.(1999). Validation of Immunotoxicology techniques in passerine chicks exposed to oil sands tailings water .Ecotoxicol . Environ .saf. UU(1) : 100 - 112 .
- Stevan ,G.; Gerald ,R.; Grabteer and Kendall ,A.S.(2001). Challenge model for Adult nor then bob white (*colinus virg imianus*) using vaccine strain of *Pasteurella multocida* . type 3 .Avian . Dis .40 (1): 99 - 102.
- Stone ,H. Mitchell , B .and Burgh , M.(1997).In ovo vaccination of chicken embryo with experimental Newcastle disease and avian influenza oil emulsion vaccines ,Avian Disease, 14:806-813.