

مطالعه اثر لوامیزول هیدروکلراید بر عیار پادتن ضد ویروس نیوکاسل در

جوجه های گوشتی

دکتر محمد حسن بزرگمهری فرد^۱، دکتر سعید آل آقا^۲، دکتر عزت الله فتحی^۳، دکتر خسرو کمالی سروستانی^۴

چکیده

با توجه به آندمیک بودن بیماری نیوکاسل در ایران، همه ساله این بیماری خسارات شدیدی را به صنعت مرغداری کشور وارد می کند. یکی از راههای پیشگیری و مبارزه با این بیماری واکسیناسیون به موقع می باشد. لوامیزول هیدرو کلراید دارویی است که با تقویت اثر ایمنی می تواند موجب تقویت اثر واکسیناسیون شود. این آزمایش روی ۲۲۵ قطعه جوجه گوشتی یکروزه که به ۵ گروه تقسیم شدند، انجام شد. گروه اول هیچ دارویی مصرف نکرد. گروه دوم لوامیزول را از یک روزگی به صورت تزریق زیر جلدی دریافت کرد. گروه سوم لوامیزول را از یک روزگی به صورت آشامیدنی دریافت کرد. گروه چهارم داروی لوامیزول هیدروکلراید را همزمان با مصرف واکسن B1 به صورت تزریق زیر جلدی دریافت کرد. گروه پنجم داروی لوامیزول هیدروکلراید را همزمان با مصرف واکسن B1 به صورت آشامیدنی دریافت کرد. از هر پرنده دو نمونه خون یکی ۱۰ روز پس از واکسن B1 و دیگری ۱۰ روز پس از واکسن لاسوتا برای آزمون HI و شمارش لنفوسیت های خونی گرفته شد.

نتایج آماری حاصل نشان داد که از نظر میانگین تیتراژ HI و تعداد لنفوسیت ها بعد از واکسن B1، بین گروه شاهد با سایر گروه ها تفاوت معنی داری وجود دارد ($P < 0.05$). ولی در آزمایش نمونه دوم که پس از واکسن لاسوتا گرفته شده بود بین پنج گروه تفاوت آماری معنی داری دیده نشد. ضریب تبدیل غذایی گروه ها نیز محاسبه شد که در پایان دوره تفاوت آماری معنی داری بین ۵ گروه مشاهده نشد. در نتیجه استفاده از این دارو می تواند موجب تقویت اثر واکسیناسیون بعد از واکسن اول گردد.

واژگان کلیدی: نیوکاسل، جوجه گوشتی، لوامیزول هیدرو کلراید، واکسن B1،

واکسن لاسوتا

مقدمه

نیوکاسل یکی از مهمترین بیماریهای طیور با انتشار جهانی و همه گیری بالا است که از زمان بوجود آمدن سیستم هایی با تراکم بالا بر اهمیت آن افزوده شده است. واکسیناسیون به موقع و طبق برنامه مهمترین راه پیشگیری از این بیماری می باشد (۵). لوامیزول هیدرو کلراید دارویی است که قبلاً به عنوان ضد انگل نامتودی در دامپزشکی مصرف می شود. این

The study on effect of levamisole hydrochloride on the titer of antibody against Newcastle disease virus in broilers

Bozorgmehri Fard, M. H.¹, Aleagha, S.², Fathi, E.³, Kamali Sarvestani, K. h.⁴

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

2-Razi Institute of Vaccine and Serum Research, Karaj, Iran

3-Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

4-Graduated of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

Newcastle is an endemic disease in Iran and causes a severe damage to poultry industry, annually. Punctual vaccination is one of the major prevention methods. It is started that Levamisole hydrochloride can increase the immunity system, response. In this study 225 chickens were divided in 5 groups. First group (control) took no drug. In second group, Levamisole hydrochloride was injected (SC) on the first day and repeated weekly. In third group, oral Levamisole hydrochloride administered in first day and repeated daily.

In fourth group, levamisole hydrochloride was used subcutaneously along with B1-vaccine and repeated weekly. In fifth group oral Levamisole hydrochloride with B1-vaccine used and repeated daily. Two Blood sample were for HI test taken from each chicken, 10 days after B1 (19th day) and 10 days after Lasota (31st day) vaccination, respectively. A significant difference of HI titer and number of the blood lymphocytes after B1 vaccination was seen between the experimental and the control groups ($p < 0.01$), whereas there was no significant difference among 5 groups after lasote vaccination. Further, There was no significant difference among 5 groups for growth parameters. In seems that Levamisole hydrochloride could accentuate vaccination immunity.

Key word: Newcastle, Broiler, Levamisole hydrochloride, B1 vaccine, Lasota vaccine

دارو از طریق مهار آنزیم سوکسینات دهیدروژناز باعث وقفه

۱-گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲- موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، کرج، ایران

۳- دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

۴- دانش آموزانه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر کرد

در مراحل متابولیسم بدن کرم و کاهش تولید ATP و در نهایت فلج عضلات کرم می شود. علاوه بر این کار ثابت شده است که لوامیزول به عنوان محرک سیستم ایمنی از طریق تعدیل پاسخهای سلولهای دفاعی بر ایمنی میزبان اثر می گذارد و باعث بهبود کار سلولهای ماکروفاژ چند هسته ای و T cell می شود و از این طریق باعث تقویت سیستم ایمنی بدن می شود (۳ و ۴). نکته قابل اشاره دیگر اینکه لوامیزول به سرعت از بدن دفع شده (۶ درصد در ادرار و ۳۲ درصد در مدفوع در ۲۴ ساعت اول دفع می شود) (۱) و از نظر باقی ماندن دارو در لاشه مشکل ایجاد نمی نماید و می تواند موجب تقویت اثر واکسیناسیون در جوجه ها شود.

روش کار

در این آزمایش از ۲۲۵ قطعه جوجه گوشتی یکروزه نژاد آرپوراکرز که به ۵ گروه مساوی و هر گروه به سه تکرار در قالب یک طرح کاملا تصادفی تقسیم شدند، استفاده شد. همه جوجه ها از نظر تغذیه، درجه حرارت و رطوبت در شرایط کاملا یکسان در یک مزرعه نگهداری شدند. در روز اول بر طبق گروه بندی های انجام شده مصرف دارو آغاز شد. گروه اول هیچ دارویی مصرف نکرد. گروه دوم داروی لوامیزول هیدروکلراید را هر هفته یک نوبت تا ۳۱ روزگی با دوز ۲mg/kg به صورت تزریق زیر جلدی دریافت کرد. گروه سوم داروی لوامیزول هیدروکلراید را از ۱ روزگی با دوز ۱۰ mg/kg از محلول ۱۳/۶۵٪ به صورت آشامیدنی روزانه تا ۳۱ روزگی دریافت کرد. گروه چهارم داروی لوامیزول هیدروکلراید را همزمان با مصرف واکسن B1 با دوز ۲mg/kg به صورت تزریق زیر جلدی هر هفته یک نوبت تا ۳۱ روزگی دریافت نمود. گروه پنجم داروی لوامیزول هیدروکلراید را همزمان با مصرف واکسن B1 با دوز ۱۰mg/kg از محلول ۱۳/۶۵٪ به صورت آشامیدنی

روزانه تا ۳۱ روزگی دریافت کرد. مصرف دارو در همه گروه های مورد آزمایش تا ۱۰ روز بعد از واکسیناسیون ادامه داشت. واکسن B1 در ۹ روزگی به صورت قطره چشمی و واکسن لاسوتا به روش آشامیدنی در ۲۱ روزگی استفاده شد. ده روز پس از هر واکسیناسیون یعنی در ۱۹ و ۳۱ روزگی از همه جوجه ها خونگیری شد. خون گیری از ورید بالی صورت گرفت. پس از جدا سازی سرم، نمونه ها جهت آزمون HI به آزمایشگاه فرستاده شد تا از نظر تیتراژ آنتی بادی ضد ویروس نیوکاسل مورد ارزیابی قرار گیرد. در هر مرحله از خون گیری از تمام جوجه ها گسترش خونی نیز به طور مستقیم روی لام تهیه و بوسیله الکل متیلیک پایدار گردید. سپس نمونه ها در آزمایشگاه با روش رنگ آمیزی گیمسا رنگ شدند تا لنفوسیت ها مورد شمارش قرار گیرند. هر هفته تا پایان دوره جوجه ها توزین شده و میزان مصرف دان در هر یک از گروه ها به تفکیک محاسبه شد تا میانگین افزایش وزن، میزان مصرف دان و ضریب تبدیل غذایی آنها تعیین گردد. جهت محاسبه آماری از برنامه SAS مدل GLM آنالیز واریانس استفاده شد. با این روش در صورتیکه اختلاف بین گروه ها معنی دار بود با استفاده از روش آماری Scheff test گروه ها مجدداً با هم مقایسه شدند. در صورتیکه احتمالات کمتر از ۰/۰۵ بود اختلاف از نظر آماری معنی دار تلقی می شد.

نتایج

در مرحله اول آزمایش که مصرف داروی لوامیزول هیدرو کلراید به همراه واکسن B1 بود، بر اساس آزمون آماری داده های گروه های مختلف مشخص گردید که تنها اختلاف گروه شاهد با سایر گروه ها از نظر آماری بسیار معنی دار است ($P < 0/05$). این اختلاف از هر دو قسمت آزمایش یعنی آزمون HI و شمارش لنفوسیت ها بدست آمد. نتایج حاصله در جدول ۱ و ۲ آورده شده است. در

جدول ۳- مقایسه تغییرات تیتراژ HI مختلف بعد از واکسن لاسوتا

گروه	میانگین
G1	5/5 ± 0/885
G2	5/8 ± 0/820
G3	6/1 ± 0/819
G4	6 ± 0/661
G5	5/9 ± 0/877

جدول ۴- مقایسه تغییرات شمارش لنفوسیت ها در گروه های مختلف بعد از واکسن لاسوتا

گروه	میانگین
G1	13986/67 ± 614/050
G2	14123/33 ± 715/196
G3	14240/00 ± 702/508
G4	14086/67 ± 633/944
G5	14156/67 ± 558/744

جدول ۵- مقایسه تغییرات میانگین وزن گروه های مختلف در آخر دوره

گروه	میانگین
G1	2/3 ± 0/820
G2	2/3 ± 0/850
G3	2/4 ± 0/860
G4	2/4 ± 0/815
G5	2/35 ± 0/842

جدول ۶- مقایسه تغییرات ضریب تبدیل غذایی گروه های مختلف در آخر دوره

گروه	میانگین
G1	2/04 ± 0/950
G2	2/06 ± 0/965
G3	2/02 ± 0/960
G4	2/04 ± 0/994
G5	2/04 ± 0/970

مرحله دوم آزمایش که مصرف داروی لوامیزول هیدرو کلراید به همراه واکسن لاسوتا بود، بر اساس آزمون آماری مشخص گردید که هیچ اختلاف آماری معنی داری بین گروه های مختلف چه در آزمون HI و چه در شمارش لنفوسیتها وجود ندارد. نتایج حاصله در جدول ۳ و ۴ نشان داده شده است. میانگین وزن، مصرف دان و ضریب تبدیل غذایی هر گروه در آخر دوره اندازه گیری شده و با آزمون آماری مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت که اختلاف معنی داری چه در میانگین وزن و چه در ضریب تبدیل غذایی گروه های مختلف دیده نشد. نتایج بدست آمده از این آزمون در جدول ۵ و ۶ آورده شده است. در طول دوره آزمایش تلفات خاصی مشاهده نشد و موارد انفرادی ناشی از عوارض مختلف بودند.

جدول ۱- مقایسه تغییرات تیتراژ HI گروه های مختلف بعد از واکسن B1

گروه	میانگین	
G1	4/17 ± 0/950	a
G2	5/17 ± 0/950	B
G3	5/37 ± 0/999	B
G4	5/10 ± 0/885	B
G5	5/13 ± 0/973	B

جدول ۲- مقایسه تغییرات شمارش لنفوسیت ها در گروه های مختلف بعد از واکسن B1.

گروه	میانگین	
G1	13286/67 ± 1158/695	a
G2	14166/67 ± 872/702	B
G3	14480/00 ± 680/466	B
G4	14176/67 ± 871/259	B
G5	14223/33 ± 795/107	B

حروف a و b نشانه اختلاف آماری معنی دار ($P < 0/05$) بین گروه ها می باشد.

بحث

تجزیه و تحلیل داده های حاصل از تیتر HI بعد از واکسن B1 در قسمت اول مطالعه به روش آنالیز واریانس نشان داد که تنها اختلاف معنی دار بین گروه شاهد با سایر گروه ها وجود دارد و بین گروه هایی که داروی لوامیزول هیدروکلراید را در یک روزگی یا همزمان با مصرف واکسن دریافت کرده اند و همچنین بین روش آشامیدنی و تزریقی مصرف دارو اختلاف آماری معنی داری وجود ندارد و تنها اختلاف عددی مختصری مشاهده می شود. می توان گفت که استفاده از داروی لوامیزول هیدروکلراید در گله بر روی تیتر HI بعد از واکسن B1 موثر بوده است ولی زمان استفاده یعنی روز اول و یا همزمان با مصرف واکسن تاثیر چندانی بر تیتر گله ندارد. در مورد تعداد لئوسیت های موجود در خون جوجه های گروه های مختلف بعد از واکسن B1 بر اساس آزمون آنالیز واریانس مشخص گردید که تنها تفاوت آماری معنی دار موجود بین گروه شاهد با سایر گروه ها وجود دارد و تفاوت آماری معنی داری بین گروه هایی که از روز اول دارو دریافت کرده و یا همزمان با مصرف واکسن B1 و همچنین بین روش دریافت دارو (آشامیدنی و تزریقی) وجود نداشته و می توان گفت که استفاده از داروی لوامیزول هیدروکلراید در گله بر روی تعداد لئوسیتها اثر مثبت دارد ولی زمان استفاده یعنی روز اول و یا همزمان با مصرف واکسن تاثیر چندانی بر تعداد لئوسیتهای خونی گله ندارد. در مرحله دوم مطالعه که تیتر HI بعد از واکسن لاسوتا اندازه گیری شد طبق آزمون های آماری این نتیجه بدست آمد که هیچ تفاوت آماری معنی داری بین گروه های مختلف وجود ندارد و مصرف داروی لوامیزول هیدروکلراید در هر زمانی و با هر روشی اختلاف آماری معنی داری را در تیتر گله ایجاد نمی کند. همچنین در شمارش تعداد لئوسیت های خونی جوجه های گروه های مختلف بعد از واکسن لاسوتا آزمون آماری نشان داد

که اختلاف آماری معنی داری بین گروه های مختلف وجود ندارد و مصرف داروی لوامیزول هیدروکلراید در هر زمانی و با هر روشی اختلاف آماری معنی داری را در تعداد لئوسیتهای موجود در خون گله ایجاد نمی کند. استفاده از لوامیزول هیدروکلراید در این آزمایش توانسته باعث تقویت سیستم ایمنی بدن پس از واکسن اول شود، شاید به این علت که در این هنگام چون هنوز سیستم ایمنی جوجه تکامل پیدا نکرده، دارو می تواند در تقویت ایمنی موثر باشد ولی بعد از واکسن دوم سیستم ایمنی تکامل پیدا کرده و دارو با این که از نظر عددی توانسته است اختلاف بین گروه شاهد با سایر گروه ها ایجاد کند ولی این اختلاف از نظر آماری معنی دار نیست و از طرفی دارو بیشتر سیستم ایمنی را تحریک می نماید که بیشتر در ابتدای واکنشها نیوکاسل دخالت دارد. از نظر تاثیر بر وزن و ضریب تبدیل غذایی، طبق نتایج به دست آمده تفاوت آماری معنی داری بین گروه های مختلف وجود ندارد. پس می توان گفت استفاده کردن از داروی لوامیزول هیدروکلراید روی ضریب تبدیل غذایی اثر چندانی ندارد. در مقایسه اجمالی بین نتیجه این تحقیق و مطالعات انجام شده می توان به مواردی چند اشاره کرد. در تحقیقی که توسط سوپی (Soppi) و همکارانش روی جوجه های سالم به صورت *in vivo* انجام دادند و اثر لوامیزول را روی ایمنی سلولی و همورال بررسی کردند ثابت شد که لوامیزول می تواند باعث تقویت پاسخ ایمنی احتمالاً از طریق فعال کردن T cell ها شود (۶). در مطالعه ای که توسط آنگلو (Angelov) و همکارانش روی اثر لوامیزول در واکنشها ضد ویروس نیوکاسل صورت گرفت مشخص شد که استفاده از دز کافی لوامیزول روی ایمنی غیر اختصاصی بدن تاثیر دارد ولی هیچ اثر مستقیمی در فعال ساختن ایمنی اختصاصی ندارد (۲). با توجه به نتایج به دست آمده و مروری که بر روی تحقیقات مشابه انجام شده صورت گرفت می توان نتیجه گرفت که

in normal chickens, *Cline Exp Immunol Dec*;
38(3): 609-14.

استفاده از داروی لوامیزول هیدروکلراید نیز توانسته در این آزمایش باعث تقویت سیستم ایمنی جوجه ها تا هفته اول زندگی شود در مورد زمان استفاده از لوامیزول هیدروکلراید در جوجه های گوشتی و با توجه به نتایج حاصل بهتر است همراه با مصرف واکسن باشد. طبق نتایج به دست آمده تفاوت چندانی بین روش تزریقی و آشامیدنی در تقویت سیستم ایمنی وجود ندارد و عملی تر آن است که از لوامیزول به صورت آشامیدنی استفاده کرد.

تشکر و سپاسگزاری

از همکاری و همیاری آقای دکتر محسن جعفریان ، احسان ترکی و امیر مسعود صادقی فر همچنین کارکنان کلینیک دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد صمیمانه تشکر و قدردانی می گردد.

فهرست منابع

- 1- اطلاعات و کاربرد داروهای دامپزشکی، شرکت دارو پخش (۱۳۷۷)، چاپ اول. تهران، ص ۳۰۷
- 2-Angelov. A.T., Arnaudov. Kh., Boiadzhieva. L., (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.
- 3-Hardman. J.G., Limberd. I.E., Gilman. A.G., (2001): Goodman and Gilman's` the pharmacological basis of therapeutics, 10th Ed., Mc Graw Hill, New York.. 1477.
- 4- Katzung.B., (2001): Basic and Clinical Pharmacology, 8Th Ed., Mc Graw Hill, New York.: 979.
- 5-Murphy. F.A., Gibbs. E.P.J., Horzine. K.M.C., Studdert. M.J., (1999): *Veterinary Virology*, Academic Press. 3rd Ed.: 411.
- 6-Soppi. E., Lassila. O., Viljanen. M.K., Lehtonen. O.P., Eskola. J., (1979): In vivo effect of levamisole on cellular and humoral immunity