

## بررسی تاثیرات اسانس آویشن بعد از تجویز واکسن لاسوتا بر آسیب‌شناسی بافتی نای، ایمنی هومورال و عملکرد جوجه‌های گوشتی

سامان فرامرزی<sup>۱</sup>، آرش خاکی<sup>۲\*</sup>

۱- دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۲- دانشیار گروه پاتوبیولوژی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

\*نویسنده مسئول مکاتبات: arashkhaki@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۲/۱۲/۱۶ پذیرش نهایی: ۹۴/۹/۳۰)

### چکیده

آویشن گیاهی است که بر سیستم تنفسی موثر می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر اسانس آویشن بر عوارض حاصل از واکسن لاسوتا بر بافت نای، سیستم هومورال و عملکرد گله‌های گوشتی می‌باشد. در این مطالعه ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس ۳۰۸ (Ross 308) به‌طور تصادفی در سه گروه ۱۰۰ قطعه‌ای تقسیم شدند. در گروه اول اسانس آویشن (۵۰ ppm) دو روز قبل و بعد از واکسیناسیون لاسوتا استفاده شد. در گروه دوم تنها از واکسن لاسوتا استفاده شد. در گروه سوم برای مقایسه بین شدت عوارض واکسن لاسوتا نسبت به واکسن B1، از واکسن B1 استفاده شد. در روز ۴۲ دوره مطالعه از بافت نای جهت آسیب‌شناسی بافتی نمونه-برداری انجام شد. همچنین، تیتراژ حاصل از واکسن‌های نیوکاسل و عملکرد جوجه‌ها بررسی شد. اسانس گیاه آویشن باعث کاهش عوارض پاتولوژیک حاصل از واکسن در نای جوجه‌ها گردید. در گروه دریافت‌کننده واکسن B1 هیچ‌گونه عارضه بافتی مشاهده نشد. ضریب تبدیل غذایی، میزان دان مصرفی و وزن نهایی در گروه تیمار با آویشن به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده واکسن لاسوتا بهبود یافت ( $p < 0/05$ ). استفاده از اسانس آویشن تاثیری بر تیتراژ حاصل از واکسن لاسوتا نداشت، ولی میزان تیتراژ آنتی‌بادی در گروه دریافت‌کننده واکسن B1 به‌طور معنی‌داری کمتر از دو گروه دیگر بود ( $p < 0/05$ ). بر اساس نتایج به‌دست آمده، اسانس آویشن باعث بهبود عملکرد گله‌های گوشتی و همچنین کاهش عوارض پاتولوژیک نای حاصل از واکسن لاسوتا می‌شود.

کلید واژه‌ها: بیماری نیوکاسل، گیاه آویشن، واکسن لاسوتا.

**مقدمه**

پیدا نشده است (Alexander et al., 2008). در ایالات متحده در سال ۱۹۳۰ بیماری تنفسی ملایمی که همراه با عوامل عصبی بود، شناخته شد و بعدها به نام پنوموآنسفالیت معروف گردید و عامل بیماری در تست‌های سرولوژی از ویروس بیماری نیوکاسل تفریق داده شد. در عرض چند سال جدایه‌های زیادی از ویروس که ایجاد بیماری بسیار ملایم در ماکیان می‌کردند، از سرتاسر دنیا گزارش شد. به هر حال، تاریخچه شیوع بیماری نیوکاسل در اغلب کشورهای دنیا به خوبی مشخص نیست (Abdu et al., 2008).

بیماری نیوکاسل توسط گروهی از ویروس‌های بسیار نزدیک به هم که سروتیپ ۱ پارامیکسو ویروس‌های پرندگان (PMV-1) را تشکیل می‌دهند، ایجاد می‌گردد. مهم‌ترین نوع ارتباط ویروس بیماری نیوکاسل و سایر سروتیپ‌های پارامیکسو ویروس با ویروس‌های سروتیپ ۳ بوده است. قبلاً سویه‌های ویروس بیماری نیوکاسل و موارد جدا شده را گروه سرمی همگون در نظر می‌گرفتند و همین تفکر اساس روش‌های واکسیناسیون را در اکثر کشورها تشکیل داده بود. با این وجود روش‌های سرم‌شناسی دقیق‌تری که اخیراً به وجود آمده و مهم‌تر از همه استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال موش، نشان داده‌اند که تنوع آنتی‌ژنی قابل توجهی بین سویه‌های مختلف ویروس بیماری نیوکاسل وجود دارد. این تفاوت‌ها که بین موارد جدا شده یافت شده‌اند، تا حد زیادی در شناخت همه‌گیری ویروس بیماری نیوکاسل به‌خصوص در همه‌گیری‌هایی با منشأ کبوتران که در دهه ۸۰ در سرتاسر دنیا ظاهر گردید، مفید بوده است (Abu-Darwish et al., 2012).

بیماری نیوکاسل برای اولین بار در سال ۱۹۲۶ در جاوه اندونزی و شهر نیوکاسل انگلستان گزارش گردید. در انگلستان با برقراری قرنطینه و کشتار دسته جمعی طیور مبتلا و با نابودی طیور در معرض سرایت، و نیز با ضدعفونی لانه‌های آلوده بیماری را کنترل کردند ولی در جاوه اندونزی مبارزه به صورتی انجام شد که کانون اصلی بیماری نابود نشد و چنین برمی‌آید که منشأ و سرچشمه انتشار و آلودگی بیماری در دنیا از این ناحیه می‌باشد. در حال حاضر بیماری نیوکاسل در تمام دنیا تحت کنترل درآمده است. در ایران، هم‌زمان با ورود جوجه یک روزه در سال ۱۳۲۹ شمسی از خارج و توسعه صنایع مرغداری در کشور، این بیماری نیز مشاهده شد. از آن زمان تاکنون بیماری هر چند سال به صورت همه‌گیر ظاهر می‌شود. در سال‌های اخیر به دلیل رشد روزافزون صنعت مرغداری اهمیت این بیماری بیشتر مورد توجه قرار گرفته است و همواره به عنوان مهم‌ترین عامل تهدید کننده طیور صنعتی و سنتی مطرح بوده است. گزارش‌های مربوط به شیوع بیماری نیوکاسل مشابه آنچه که در سال ۱۹۲۶ به وقوع پیوسته در اروپای مرکزی نیز نقل شده است (Saif et al., 2008).

گروهی از دانشمندان عاملی را از طیور مبتلا گزارش کردند و نام نیوکاسل را به صورت موقت برای این بیماری انتخاب کردند تا از این جهت با عوامل ویروسی دیگر تفریق داده شده باشد. در طی ۷۵ سال گذشته نیز نامی بهتر برای ویروس

سهولت در زمین‌های سخت و درون تخته سنگ‌ها نفوذ می‌کند و گیاه را که ساقه‌های متعدّدش حالت فشرده به هم دارند، به خوبی ثابت نگه می‌دارد و علاوه بر این که از عمق زیاد رطوبت را بالا می‌کشد، مانع از این می‌شود که به سهولت از درون خاک خارج شود. برگ‌های این گیاه کوچک، متقابل و کم و بیش نیزه‌ای شکل و بدون نوک و بدون دم‌برگ (sessile) هستند. برگ‌ها پوشیده از کرک‌های خاکستری رنگ و حاوی اسانس است. گل‌ها کوچک، نر و ماده و به رنگ‌های سفید، صورتی یا ارغوانی مشاهده می‌شوند. پیکر رویشی آویشن از بوی مطبوعی برخوردار است که ناشی از وجود اسانس می‌باشد. اسانس در کرک‌های غده‌ای ساخته و ذخیره می‌شود. اندام‌های هوایی این گیاه (غیر از ساقه‌های چوبی) حاوی اسانس هستند. آویشن باغی از قرن شانزدهم رسماً به عنوان یک گیاه دارویی معرفی شد. در تمام فارماکوپه‌های معتبر از پیکر رویشی آویشن به عنوان دارو یاد شده و خواص درمانی آن مورد تأکید قرار گرفته است (Abu-Darwish et al., 2012; Cross et al., 2006).

اسانس آویشن مایعی زرد رنگ، سبک‌تر از آب، معطر، قوی و تندمزه است. تاکنون ۳۸ ترکیب در اسانس این گیاه شناسایی شده است. مهم‌ترین ترکیبات اسانس آویشن باغی ترکیب فنلی به نام تیمول (Thymol) می‌باشد. مقدار این ماده به شدت به شرایط اقلیمی محل رویش بستگی داشته و بین ۲۰ تا ۵۵ درصد است. از ترکیبات دیگر اسانس می‌توان از کارواکرول (carvacrol)، لینالول (linalol)، سیمن (cymene) نام برد. علاوه بر روغن‌های فرار، این گیاه حاوی فلاونوئیدها از جمله فلاون‌های متیلی،

ویروس‌های بیماری نیوکاسل را بر اساس بیماری‌زایی در شرایط آزمایشگاه در ماکیان به ۵ پاتوتیپ تقسیم می‌کنند:

۱- ویروس‌های ویستروویک ولوژنیک (VVND)، شکل بسیار حاد بیماری را به وجود می‌آورند که همراه با ضایعات هموراژیک مشخص در لوله گوارش است (فرم Doyle).

۲- ویروس‌های نوروتروویک ولوژنیک (NVND)، به دنبال ایجاد نشانه‌های تنفسی و عصبی باعث بروز مرگ و میر بالایی می‌شوند (فرم Beach).

۳- ویروس‌های مزوژنیک باعث ایجاد نشانه‌های تنفسی می‌شوند و مرگ و میر بالایی را سبب می‌شوند (فرم Beaudette).

۴- ویروس‌های لتوژنیک تنفسی باعث ایجاد عفونت تنفسی خفیف یا پنهان می‌گردند (Hitchner).

۵- ویروس‌های روده‌ای بدون نشانه باعث ایجاد عفونت روده‌ای پنهان می‌گردند. برخی از واکنش‌های زنده تجاری از این نوع هستند (Alexander et al., 2008).

آویشن عضوی (*Thymus vulgaris*) است از خانواده نعنائیان (labiatae) و گیاهی است با بو و رایحه مطبوع که دارای بوته و درختچه همیشگی می‌باشد. این گیاه از مدیترانه غربی تا جنوب ایتالیا کشت داده شده است. آویشن تقریباً در همه کوه‌های ایران در بالاتر از ۱۸۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا می‌روید (Abu-Darwish et al., 2012). آویشن یک گیاه کوچک همیشه سبز است که تا ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر رشد می‌کند و ساقه پرشاخه‌ای دارد. از مشخصات گیاه آویشن آن است که ریشه چوبی و منشعب آن که ظاهری ناهموار دارد، به

در سه گروه ۱۰۰ قطعه‌ای به صورت تصادفی توزیع گردیدند. لازم به ذکر است تلفاتی در طول مدت مطالعه رویت نشد. طول مدت مطالعه از یک‌روزگی تا ۴۲ روزگی سن جوجه‌ها از دوره پرورش بود. شرایط مدیریتی، تغذیه‌ای و پرورشی در همه گروه‌ها یکسان اعمال گردید. در گروه ۱، دو روز قبل و بعد از واکسیناسیون با واکسن لاسوتا از اسانس آویشن با دز ۵۰ ppm بصورت آشامیدنی استفاده شد. در گروه ۲، قبل و بعد از مصرف واکسن لاسوتا از اسانس آویشن استفاده نگردید. در گروه ۳ به جای واکسن لاسوتا از واکسن B1 استفاده شد و قبل و بعد از واکسیناسیون از اسانس آویشن استفاده نشد. برنامه واکسیناسیون در گروه‌های ۱ و ۲ شامل: یک‌روزگی، اسپری واکسن B1+H120؛ هفت‌روزگی، تزریق واکسن دوگانه نیوکاسل - آنفلوانزا به همراه واکسن ۴/۹۱ برونشیت به صورت قطره چشمی؛ دوازده‌روزگی، واکسن لاسوتا؛ شانزده‌روزگی، واکسن گامبرو D78 و بیست و شش‌روزگی، واکسن لاسوتا بود. برنامه واکسیناسیون در گروه ۳ نیز مشابه گروه‌های ۱ و ۲ بود، با این تفاوت که در این گروه به جای واکسن لاسوتا از واکسن B1 استفاده شد (Asbaghan et al., 2011).

فاکتورهای مربوط به ارزیابی عملکرد جوجه‌ها شامل میزان دان مصرفی، ضریب تبدیل غذایی و وزن نهایی گروه‌های تحت مطالعه مورد سنجش قرار گرفت. لازم به ذکر است میزان دان مصرفی و وزن پرنده‌ها به صورت هفتگی ارزیابی و برحسب گرم اندازه‌گیری شده بود. ضریب تبدیل غذایی نیز از تقسیم میزان دان مصرفی نهایی بر میزان وزن نهایی حاصله به دست آمد.

گلیکوزیدهای فنولیک، الکل‌های آلیفاتیک و ترکیبات بایفینیل (biphynel) مانند اسید رزمارینیک و همچنین ماده تلخ تانن، ساپونین و اسیدهای تری‌پنیک می‌باشد (Lee et al., 2005).

از اثرات مختلف این عصاره می‌توان به اثرات اسپاسمولیتیک و ضد سرفه (Boskabady et al., 2006)، خلط‌آور بودن و تحریک ترشح (-Jugl Cross et al., 2006)، اثرات ضد باکتریایی (Cross et al., 2004)، اثر قارچ‌کشی (Cross et al., 2002)، اثرات آنتی‌اکسیدانی (Hossain et al., 2010)، اثر ضد آلرژی و ضد التهابی (Asbaghan et al., 2011) و اثر ضد موتاسیونی (Taherian et al., 2009) اشاره کرد.

هدف از انجام این مطالعه، بررسی تاثیرات محافظتی اسانس آویشن بعد از تجویز واکسن لاسوتا بر آسیب‌شناسی بافتی نای و ایمنی هومورال و عملکرد جوجه‌های گوشتی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### روش اسانس‌گیری

گیاه آویشن مورد استفاده در این بررسی پس از تهیه از بازار، توسط گروه فارماکوگنوزی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز تأیید شد. اسانس‌گیری آویشن شیرازی به روش تقطیر با بخار آب توسط دستگاه کولنجر انجام شد. تمام مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک کشور آلمان خریداری شد.

### طرح آزمایش

این مطالعه در تابستان سال ۱۳۹۰ در شهرستان تبریز از استان آذربایجان شرقی انجام شد. تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس ۳۰۸ (Ross-308) در یکی از مرغداری‌های شهرستان تبریز از استان آذربایجان شرقی

جهت ارزیابی وضعیت ایمنی هومورال، در روز ۴۲ آزمایش تعداد ۲۰ نمونه خون از هر گروه اخذ گردید. بدین منظور، آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون (Haemagglutination inhibition, HI) با استفاده از آنتی‌ژن نیوکاسل و تیتراسیون معکوس، پس از خونگیری از ورید بالی و جداسازی سرم جهت بررسی میزان عیار آنتی‌بادی انجام شد (Swayne, et al., 1998).

جهت انجام آزمایشات هیستوپاتولوژی در روز ۴۲، از بافت نای ۱۵ جوجه از هر گروه به‌طور تصادفی نمونه‌برداری انجام گردید. نمونه‌ها جهت پایدارسازی در فرمالین بافری ۱۰ درصد قرار داده شدند. با استفاده از شیوه‌های رایج پاساژ بافت و تهیه مقاطع آسیب‌شناسی، برش‌های پی در پی با ضخامت ۵ میکرون و با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین تهیه گردید. جهت آسیب‌شناسی بافتی، میزان پرخونی، خونریزی، آماس و نکروز در لایه مخاطی نای با استفاده از میکروسکوپ نوری مدل نیکون (ECLIPSE E200، ساخت کشور ژاپن) مورد ارزیابی قرار گرفت. تغییرات پاتولوژیک فوق به صورت نیمه کمی

### تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های به‌دست آمده کمی با استفاده از روش تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی دانکن (Duncan) توسط نرم افزار SPSS ویرایش ۱۷ مورد واکاوی آماری قرار گرفتند. مقادیر ( $p < 0/05$ ) معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

مقایسه میانگین وزن نهایی جوجه‌ها در روز ۴۲ بین گروه‌های مورد مطالعه، در جدول ۱ ارائه شده است. براساس نتایج به‌دست آمده، بین تمام گروه‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $p = 0/001$ ). گروه ۱ (واکسن لاسوتا همراه با اسانس آویشن) بیشترین وزن نهایی ( $2222/00 \pm 5/19$  گرم) و گروه ۲ (واکسن لاسوتا) کمترین وزن نهایی ( $2144/00 \pm 7/50$  گرم) را دارا بودند.

جدول ۱- مقایسه وزن نهایی جوجه‌ها در روز ۴۲ بین گروه‌های مورد مطالعه (گرم)

گروه	میانگین $\pm$ خطای استاندارد (mean $\pm$ SEM)	انحراف معیار (SD)	سطح معنی‌داری آزمون ANOVA Sig (p-value)
واکسن لاسوتا+اسانس آویشن	2222/00 $\pm$ 5/19 <sup>a</sup>	9/00	0/001
واکسن لاسوتا	2144/00 $\pm$ 7/50 <sup>b</sup>	13/00	
واکسن B1	2169/00 $\pm$ 4/61 <sup>c</sup>	8/00	

cha. حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود تفاوت آماری معنی‌دار است ( $p < 0/05$ ).

معنی داری وجود داشت ( $p=0/001$ )، اما این اختلاف بین گروه‌های ۲ و ۳ معنی دار نبود. گروه ۱ کمترین دان مصرفی ( $4163/00 \pm 7/50$  گرم) و گروه ۲ بیشترین دان مصرفی ( $4250/00 \pm 4/61$  گرم) را دارا بودند.

مقایسه میانگین دان مصرفی در روز ۴۲ بین گروه‌های مورد مطالعه، در جدول ۲ ارائه شده است. براساس نتایج به دست آمده بین گروه ۱ (واکسن لاسوتا همراه با اسانس آویشن) و گروه‌های ۲ (واکسن لاسوتا) و ۳ (واکسن B1) از نظر میانگین دان مصرفی اختلاف

جدول ۲- مقایسه میزان دان مصرفی بین گروه‌های مورد مطالعه (گرم)

گروه	میانگین $\pm$ خطای استاندارد (mean $\pm$ SEM)	انحراف معیار (SD)	سطح معنی داری آزمون ANOVA Sig (p-value)
واکسن لاسوتا+اسانس آویشن	$4163/00 \pm 7/50^a$	۱۳/۰۰	۰/۰۰۱
واکسن لاسوتا	$4250/00 \pm 4/61^b$	۸/۰۰	
واکسن B1	$4237/00 \pm 9/23^b$	۱۶/۰۰	

a,b,c حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت آماری معنی دار است ( $p < 0/05$ ).

اختلاف معنی داری وجود داشت ( $p=0/012$ )، اما این اختلاف بین گروه‌های ۲ و ۳ معنی دار نبود. گروه ۱ کمترین ضریب تبدیل غذایی ( $1/87 \pm 0/01$ ) و گروه ۲ بیشترین ضریب تبدیل غذایی ( $1/98 \pm 0/01$ ) را دارا بودند.

مقایسه میانگین ضریب تبدیل غذایی در روز ۴۲ بین گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۳ ارائه شده است. براساس نتایج به دست آمده بین گروه ۱ (لاسوتا همراه با اسانس آویشن) و گروه‌های ۲ (واکسن لاسوتا) و ۳ (واکسن B1) از نظر میانگین ضریب تبدیل غذایی

جدول ۳- مقایسه میزان ضریب تبدیل غذایی بین گروه‌های مورد مطالعه

گروه	میانگین $\pm$ خطای استاندارد (mean $\pm$ SEM)	انحراف معیار (SD)	سطح معنی داری آزمون ANOVA Sig (p-value)
واکسن لاسوتا+اسانس آویشن	$1/87 \pm 0/01^a$	۰/۰۲	۰/۰۱۲
واکسن لاسوتا	$1/98 \pm 0/01^b$	۰/۰۳	
واکسن B1	$1/95 \pm 0/02^b$	۰/۰۴	

a,b,c حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت آماری معنی دار است ( $p < 0/05$ ).

نسبت به گروه ۳ (واکسن B1) اختلاف معنی داری وجود داشت ( $p=0/003$ ) ولی این اختلاف بین گروه‌های ۱ و ۲ معنی دار نبود. گروه ۱ بیشترین تیتراژ HI ( $6/87 \pm 0/01$ ) و گروه ۳ کمترین تیتراژ HI ( $5/54 \pm 0/17$ ) را دارا بودند.

مقایسه میانگین عیار آنتی بادی حاصل از آزمایش ممانعت از هماگلوآگوتیناسیون (HI) در روز ۴۲ بین گروه‌های مورد مطالعه، در جدول ۴ ارائه گردیده است. از نظر میانگین تیتراژ HI بین گروه‌های ۱ (واکسن لاسوتا همراه با اسانس آویشن) و ۲ (واکسن لاسوتا)

جدول ۴- مقایسه میزان تیترا مانعت از هماکلوتیناسیون (HI) بین گروه‌های مورد مطالعه

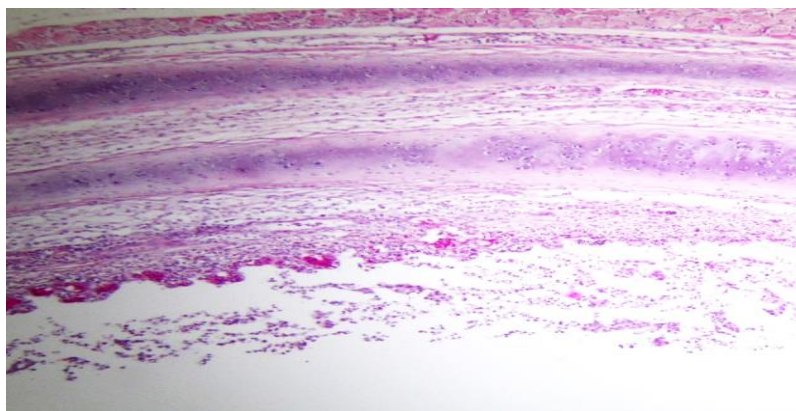
گروه	میانگین $\pm$ خطای استاندارد (mean $\pm$ SEM)	انحراف معیار (SD)	سطح معنی‌داری آزمون ANOVA Sig (p-value)
واکسن لاسوتا+اسانس آویشن	۶/۸۷ $\pm$ ۰/۲۰ <sup>a</sup>	۰/۳۶	۰/۰۰۳
واکسن لاسوتا	۶/۶۳ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۰/۲۰	
واکسن B1	۵/۵۴ $\pm$ ۰/۱۷ <sup>b</sup>	۰/۳۱	

a, b, c: حروف متفاوت نشان دهنده وجود تفاوت آماری معنی‌دار است ( $p < 0.05$ ).

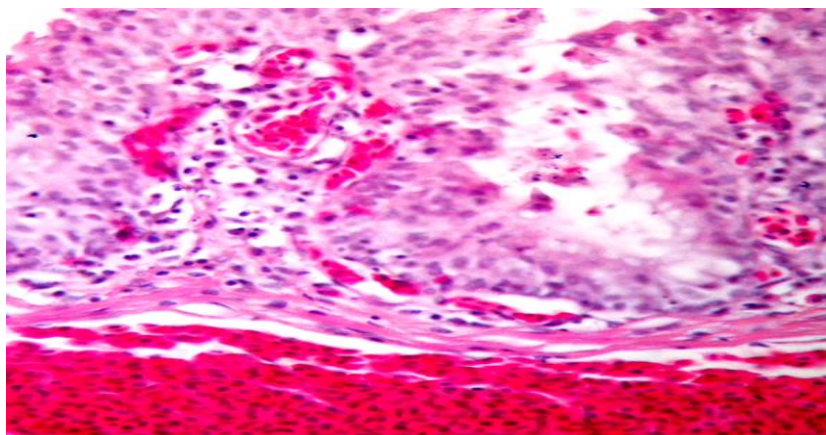
### آسیب‌شناسی بافتی

مشاهدات ریزبینی بافت نای جوجه‌ها در گروه ۱ (واکسن لاسوتا همراه با اسانس آویشن)، علایم پاتولوژیک شامل پرخونی خفیف ناحیه مخاطی همراه با نکروز اندک مخاط را نشان داد (شکل ۱). در گروه ۲ (واکسن لاسوتا) نیز پرخونی شدید، خونریزی، آماس و نکروز در ناحیه مخاط و زیرمخاط بافت نای مشاهده شد

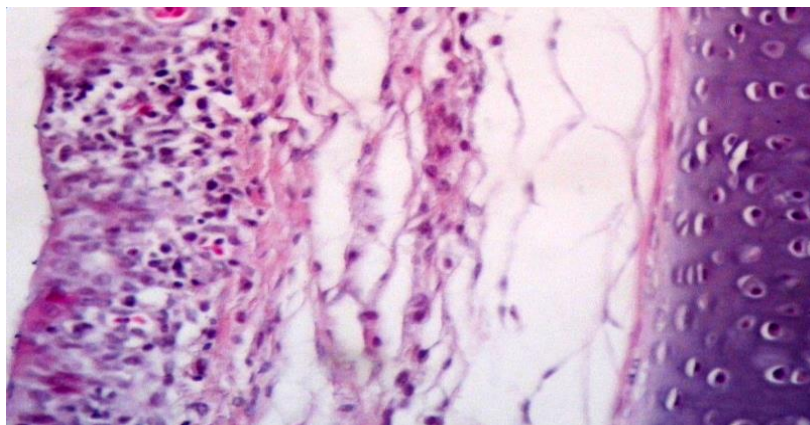
(شکل ۲). در گروه ۳ (واکسن B1)، هیچ‌گونه واکنش آماسی، پرخونی و نکروز در نای مشاهده نشد و ساختار آن نسبتاً طبیعی بود (شکل ۳). مقایسه شدت تغییرات پاتولوژیک بافت نای جوجه‌های گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۵ آورده شده است.



شکل ۱- نمای ریزبینی از بافت نای جوجه در گروه ۱ (واکسن لاسوتا همراه با اسانس آویشن). پرخونی خفیف در ناحیه مخاط نای همراه با نکروز اندک بافت مخاطی مشخص می‌باشد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، درشت‌نمایی  $\times 160$ ).



شکل ۲- نمای ریزبینی از بافت نای جوجه در گروه ۲ (واکسن لاسوتا). پرخونی شدید ناحیه مخاط و زیر مخاط نای (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اتوزین، درشت‌نمایی  $\times 320$ ).



شکل ۳- نمای ریزبینی از بافت نای جوجه در گروه ۳ (واکسن B1). بافت نای دارای ساختار طبیعی می‌باشد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اتوزین، درشت‌نمایی  $\times 320$ ).

جدول ۵- مقایسه شدت تغییرات پاتولوژیک نای بین گروه‌های مورد مطالعه

گروه	پارامترهای مورد سنجش			
	پرخونی و ادم	خونریزی	نکروز و تخریب بافتی	آماس
واکسن لاسوتا+اسانس آویشن	+++	-	+	+
واکسن لاسوتا	++++	+++	++	++
واکسن B1	+	-	-	-

(-): عدم وجود آسیب، (1+): آسیب ملایم، (2+): آسیب متوسط، (3+): آسیب شدید، (4+): آسیب بسیار شدید



**بحث و نتیجه گیری**

مطالعات نشان داده است که بعد از تجویز واکسن نیوکاسل، در نای ادم ملایم تا نسبتاً شدید در زیر مخاط، احتقان در عروق و ارتشاح سلول‌های آماسی در ناحیه پارین همراه با هیپرپلازی بافت پوششی مشاهده می‌شود و همچنین در ریه‌ها پرخونی و ادم در پارابرونشیول‌ها ایجاد می‌شود و در موارد شدید خونریزی و اریتروافگوسیتوز در ناحیه آلوئولی پارابرونش‌ها نیز دیده می‌شود (Alexander et al., 2008). این نتایج در مورد تغییرات پاتولوژیک نای، با یافته‌های بررسی حاضر هم‌خوانی دارد.

نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از اسانس آویشن سبب کاهش میزان پرخونی، خونریزی، نکروز بافتی و آماس در مخاط نای متعاقب واکسیناسیون با واکسن لاسوتا می‌شود. در گروه دریافت‌کننده واکسن B1 تغییرات پاتولوژیک قابل ملاحظه‌ای در بافت مخاطی نای مشاهده نشد و ساختار بافتی کاملاً طبیعی بود. این یافته در قیاس با تحقیقات گذشته کاملاً در توافق می‌باشد (Boskabady et al., 2006) با توجه به مطالعات پیشین، به نظر می‌رسد مواد آنتی‌اکسیدانی موجود در اسانس گیاه آویشن می‌تواند موجب تسریع در روند التیام عوارض پاتولوژیک ناشی از واکسن باشد. نتایج حاصل از بررسی ایمنی هومورال نیز نشان داد که تیتراژ سرمی در گروه استفاده‌کننده از اسانس آویشن بالاتر بود و ایمنی بهتری ایجاد شده بود.

بیماری‌های تنفسی در طیور به صورت عفونت‌های منفرد و یا عفونت‌های ایجاد شده به وسیله چندین عامل می‌باشند (Al-Garib et al., 2003; Malik et al., 2004). ویروس بیماری نیوکاسل یکی از عمده‌ترین عوامل بیماری‌های تنفسی در طیور گوشتی می‌باشد و

خسارات اقتصادی فراوانی ناشی از شیوع و تلفات حاصل از این بیماری در سال‌های اخیر گریبان‌گیر مرغداری‌های کشور، به خصوص مرغداری‌های شمال غرب کشور بوده است. از این رو، اهمیت اقتصادی بیماری نیوکاسل مشخص می‌باشد. علاوه بر آن، در اغلب کشورها خسارات بیماری علاوه بر شیوع آن شامل انجام برنامه‌های پیش‌گیری می‌باشد که جزو هزینه‌های دائمی جهت مهار بیماری نیوکاسل می‌باشد. حتی در کشورهای عاری از بیماری برای اهداف تجاری و تست‌های مربوطه هزینه‌های بسیاری تحمیل می‌شود. در برخی کشورها بیماری نیوکاسل آن‌دمیک است و بنابراین، به عنوان یک عامل محدود کننده در توسعه تولیدات طیور صنعتی محسوب می‌شود (Alexander et al., 2008).

در ایران غالباً مرغداران جهت پیشگیری و کنترل بیماری نیوکاسل به جای رعایت امنیت زیستی در مرغداری از واکسیناسیون استفاده می‌نمایند. با این حال، فرم‌های شدید بیماری نیوکاسل در گله‌های واکسینه‌شده نیز می‌تواند رخ داده و باعث تلفات و کاهش رشد گردد (Abdu et al., 2008; Musa et al., 2010; Simon et al., 2006). همچنین مطالعات نشان داده است که عدم کفایت تغذیه، شرایط نامساعد جوی، سطوح آنتی‌بادی‌های مادری، چالش با ویروس در فارم، کیفیت جوجه یک‌روزه و نژاد آن و کیفیت واکسن و روش تجویز آن بر عوارض حاصل از ویروس بیماری نیوکاسل موثر می‌باشد (Alexander et al., 2008).

امروزه در سرتاسر دنیا به منظور ایجاد ایمنی نسبی در برابر طیف وسیع بیماری‌های تهدیدکننده حیات صنعت طیور، استفاده از واکسن ضروری می‌باشد و با توجه به

نوع گله و اهداف پرورشی از واکسن‌های مختلفی استفاده می‌شود. متعاقب انجام واکسیناسیون، ویروس واکسن باید سلول‌های بافت هدف را آلوده کرده و تکثیر یابد تا از این طریق بتواند دستگاه ایمنی پرنده را تحریک کند. معمولاً اگر واکسیناسیون در یک گله سالم به‌طور صحیح انجام شود، ۲ تا ۳ روز پس از تجویز واکسن‌های تنفسی (مانند نیوکاسل-برونشیت) واکنش ملایمی در قالب علائم خفیف تنفسی بروز کرده که معمولاً به مدت ۵ تا ۷ روز ادامه دارد. این نشانه‌ها حکایت از آن دارد که واکسن عمل کرده یا به عبارت دیگر ویروس واکسن در مجاری تنفسی جایگزین شده و دستگاه ایمنی پرنده را تحریک کرده است. در صورتی که علائم تنفسی خفیف در سطح گله واکسینه شده مشاهده نگردد، می‌تواند بدین معنی باشد که تحریک دستگاه ایمنی صورت نگرفته و یا به مقدار کم صورت گرفته است. گاهی این واکنش‌ها شدیدتر از حد معمول می‌باشند که به‌عنوان واکنش ناشی از واکسن نامیده می‌شود. رخداد این واکنش‌ها در صنعت طیور بسیار معمول است و معمولاً مهم‌ترین نمونه بارز این واکنش، ایجاد بیماری کلی‌باسیلوز می‌باشد که اغلب به‌صورت ثانویه بعد از بروز این واکنش‌ها، مشاهده می‌شود که در نهایت استفاده از آنتی‌بیوتیک اجتناب‌ناپذیر می‌شود (رسول‌نژاد، ۱۳۷۰).

عصاره روغن آویشن روی دستگاه گوارش به‌ویژه روده جوجه گوشتی اثر کرده و سبب ترشح آنزیم‌های گوارشی و آندوژن می‌شود. از جمله این آنزیم‌ها می‌توان به آمیلاز و کیموتریپسین اشاره کرد که میزان تولید آن‌ها افزایش می‌یابد. در نتیجه میزان جذب ویلی‌های روده بالا رفته و مقدار غذای اخذ شده توسط

جوجه‌های گوشتی نیز بیشتر می‌شود. در نهایت میزان وزن‌دهی آن‌ها زیاده‌تر شده و میزان ضریب تبدیل غذایی پائین‌تر خواهد آمد. یعنی مقدار غذای اخذ شده و مورد استفاده توسط جوجه‌های گوشتی کاهش یافته و در مقابل، وزن‌دهی و افزایش میزان وزن بدن آن‌ها بالاتر می‌رود. بنابراین، وزن لاشه هنگام فروش بالاتر بوده و از لحاظ اقتصادی نیز مفید و مقرون به صرفه خواهد بود. از طرف دیگر روغن‌های فرار آویشن باعث افزایش وزن اندام‌های داخل شکمی جوجه‌های گوشتی مانند کبد و سنگدان می‌شوند (Alcicek *et al.*, 2004; Hernandez *et al.*, 2004). به دلیل مصرف این اندام‌ها استفاده از این روغن‌ها می‌تواند از نظر اقتصادی مقرون به‌صرفه باشد (Hernandez *et al.*, 2004). تیمول و کارواکرول موجود در اسانس آویشن دارای خواص ضد میکروبی و ضد باکتریایی بوده، بنابراین در روده جوجه‌های گوشتی موجب از بین رفتن عوامل پاتوژن و بیماری‌زا شده و لذا از این طریق نیز باعث رشد بهتر و سریع‌تر و در نهایت بازده بیشتر گله می‌شوند. بر اساس تحقیقات صورت گرفته می‌توان از روغن آویشن در انواع مشکلات و مسمومیت‌های گوارشی و روده‌ای جوجه‌های گوشتی استفاده نمود (Dalkilic *et al.*, 2001; Losa *et al.*, 2005). میزان پاسخ مثبت دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی به روغن گیاهی آویشن با توجه به سن متغیر می‌باشد. به طوری که، در سنین پائین اضافه کردن آویشن به جیره غذایی آن‌ها باعث ایجاد پاسخ و نتیجه بهتر و وزن‌گیری بیشتر و بالاتری در مقایسه با سنین بالاتر می‌شود (Cross *et al.*, 2002). مصرف هم‌زمان سویا و آویشن خواص مفید گوارشی

جیره روی نسبت دان به وزن می‌توانست در رابطه با افزایش بازده مصرف دان و تغییر ترکیب لاشه باشد.

همچنین مطالعه محققین روی تاثیر گیاه آویشن در عملکرد جوجه‌های گوشتی نشان داد که استفاده از اسانس آویشن ۲۰ درصد روزانه به مدت ۱۲ ساعت منجر به کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن‌گیری نهایی می‌گردد که این تاثیر معنی‌دار می‌باشد. برآیند مطالعات حاکی از آن است که اثرات روغن‌های فرار در عملکرد رشد وقتی که جوجه‌ها در معرض شرایط زیر بهینه نظیر تغذیه با جیره با قابلیت هضم پائین و محیط کثیف قرار گیرند، ظاهر می‌شود (Lee et al., 2004). نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که افزودن عصاره آویشن در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی، قبل و بعد از واکسیناسیون با واکسن لاسوتا، وزن‌گیری، مصرف دان و ضریب تبدیل غذایی را بهبود می‌بخشد. لذا افزودن عصاره آویشن با دوز ۵۰ ppm در زمان انجام واکسیناسیون با واکسن‌هایی که احتمال ایجاد عوارض پس از واکسیناسیون وجود دارد، توصیه می‌شود.

مطالعه محققین روی تاثیر گیاه آویشن در تحریک سیستم ایمنی با اندازه‌گیری تیتراژ ناشی از واکسن لاسوتا نشان داد که گیاه آویشن تاثیری بر میزان عیار حاصل از واکسیناسیون ندارد (Rahimi et al., 2011). همچنین، در مطالعه ایشان مشخص شد که گیاه آویشن باعث بهبود درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین می‌گردد که البته این تاثیر آویشن معنی‌دار نبود. به همین ترتیب، گیاه آویشن موجب افزایش باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک و کاهش میزان باکتری *اشریشیا کولی* می‌شود که این تاثیر در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود (Rahimi et al., 2011). همچنین، مطالعه البیتاوی و

این گیاه را می‌تواند تا چندین برابر افزایش دهد (Hernandez et al., 2004).

بر اساس مطالعات، اثرات حاصل از روغن‌های فرار آویشن بر عملکرد رشد جوجه‌ها مثبت و یا فاقد تاثیر معنی‌دار بوده است. در مطالعات مختلف، میزان‌های افزوده‌شده آویشن از ۲۰ ppm تا ۲۰۰ متغیر بودند. زمانی که روغن‌های فرار اثر مثبتی بر عملکرد داشتند، وزن‌گیری و میزان مصرف دان افزایش یافته ولی نسبت میزان مصرف دان به افزایش وزن در مقایسه با کنترل پائین بود (Lee et al., 2004). از سوی دیگر بوتسوگلو و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند، اضافه نمودن روغن‌های اساسی پونه کوهی در جیره جوجه‌های گوشتی به مدت ۳۸ روز در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ ppm اثر مثبتی بر وزن و ضریب تبدیل داشته است (Botsoglou et al., 2002). مطالعه وقت و رخ در سال ۱۹۹۱ نیز حاکی از آن است که افزودن مقادیر ۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ از روغن‌های فرار آویشن در جیره جوجه‌های گوشتی تاثیر مثبتی بر عملکرد رشد نداشته است (Vogt and Rauch, 1991). از سوی دیگر اثرات مثبت روغن‌های فرار بیان شده است (Bassett, 2000; Kamel, 2001). این امر نشان می‌دهد زمانی که شرایط آزمایش و جیره‌های پرندگان در حد تامین باشد، اثرات تشدیدکنندگی رشد روغن‌های فرار بهتر مشاهده خواهد شد. همچنین مطالعات نشان داده است که افزودن کارواکرول به جیره برخلاف تیمول در غلظت ۲۰۰ ppm وزن‌گیری و مصرف دان را کاهش داده است ولی نسبت دان به وزن را زمانی که پرندگان جیره را به مدت ۲ هفته دریافت نموده‌اند، بهبود بخشیده است (Lee et al., 2004). پیشنهاد شده که اثر کارواکرول در

بر اساس مجموعه فوق‌الذکر نتایج حاصل از مطالعه حاضر، اسانس آویشن باعث بهبود عملکرد گله‌های گوشتی و همچنین کاهش عوارض حاصل از واکسن لاسوتا در جوجه‌های گوشتی می‌شود.

همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان داد که استفاده از گیاه آویشن هیچ تاثیر معنی‌داری بر افزایش تیترا آنتی‌بادی واکسن نیوکاسل ندارد (Al-Beitawi *et al.*, 2010). یافته‌های حاصل از عیار آنتی‌بادی حاصل از واکسیناسیون در مطالعه حاضر نیز با یافته‌های مطالعات فوق هم‌خوانی دارد.

## منابع

- رسول‌نژادفریدونی، س. (۱۳۷۰). اصول واکسیناسیون، چکاوک، دوره ۱، شماره ۷، صفحات: ۵۲-۳۵.
- Abdu, P.A., Wakawa, A.M., Sa'idu, L., Joanis, T.M. and Fatihu, M.Y. (2008). A severe form of Newcastle disease caused by a mesogenic virus in five-week old broilers in Zaria. *Veterinary Clinical Practice Bulletin*, 1: 1-6.
- Abu-Darwish, M.S., Alu'datt, M.H., Al-Tawaha, A.R., Ereifej, K., Almajwal, A., Odat, N., *et al.* (2012). Seasonal variation in essential oil yield and composition from *Thymus vulgaris* L. during different growth stages in the south of Jordan. *Natural Product Research*, 26(14): 1310-1317.
- Al-Beitawi, N.A., El-Ghousein, S.S. and Athamneh, M.Z. (2010). Effect of adding crushed *Pimpinella anisum*, *Nigella sativa* seeds and *Thymus vulgaris* mixture to antibiotics-free rations of vaccinated and non-vaccinated male broilers on growth performance, antibody titer and haematological profile. *Italian Journal of Animal Science*, 9(2): 222-228.
- Alcicek, A., Bozkurt, M. and Cabuk, M. (2004). The effect of a mixture of herbal essential oils, an organic acid or a probiotic on broiler performance. *South African Journal of Animal Science*, 34(4): 217-222.
- Alexander, D.J., Senne, D.A., Gough, R.E. and Jones, R.C. (2008). Newcastle Disease, Pneumovirus Infection and Other Paramyxoviruses. In: *Diseases of Poultry*. Saif, Y.M., Fadly, A.M., Glisson, J.R., Mc Dougald, L.R., Nolan, L.K. and Swayne, D.E. editors. 12th ed., Iowa: Wiley-Blackwell Publishing, pp: 75-115.
- Al-Garib, S.O., Gielkens, A.L.J., Gruys, E. and Kochi, G. (2003). Review of Newcastle disease virus with particular references to immunity and vaccination. *World's Poultry Science Journal*, 59(02): 185-200.
- Asbaghian, S., Shafaghat, A., Zarea, K., Kasimov, F. and Salimi, F. (2011). Comparison of volatile constituents, and antioxidant and antibacterial activities of the essential oil of *Thymus caucasicus*, *T. kotschyanus* and *T. vulgaris*. *Natural Product Communications*, 6(1): 137-140.
- Bassett, R. (2000). Oergano's positive impact on poultry production. *World Poultry*, 16: 31-34.
- Beard, C.W. and Easterday, B.C. (1967). The influence of route of administration of Newcastle disease virus on host response. *Journal of Infectious Diseases*, 117: 55-70.

- Boskabady, M.H., Aslani, M.R. and Kiani, S. (2006). Relaxant effect of *Thymus vulgaris* on guinea-pig tracheal chains and its possible mechanism(s). *Phytotherapy Research*, 20(1): 28-33.
- Botsoglou, N.A., Florou-Paneri, P., Christaki, E., Fletouris, D.J. and Spais, A.B. (2002). Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. *British Poultry Science*, 43(2): 223-230.
- Cross, D.E., Svoboda, K.H.K., Mcdevitt, R. and Acamovic, T. (2002). Effects of *Thymus vulgaris* L. Essential oils as an in vivo dietary supplement on chicken intestinal microflora. 33rd International Symposium on Essential oils Lisbon, Portuga, pp: 31-32
- Cross, D.E., Acamovic, T. and McDevitt, R.M. (2004). Effects of the inclusion of *Thymus vulgaris* L. oil in diets with and without enzymes, on nutrient digestibility in broilers. *British Poultry Science*, 45(Suppl 1): S22-23.
- Dalkilic, B., Guler, T., Ertas, O.R. and Ciftci, M. (2005). The effect of Thyme and anise oils and antibiotic on total cecum coliform bacteria number. III. National Animal Nutrition Congress. Adana-Turkey, pp: 378-382.
- Hernandez, F., Madrid, J., Garcia, V., Orengo, J. and Megias, M. (2004). Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poultry Science*, 83(2): 169-174.
- Hossain, M.B., Brunton, N.P., Martin-Diana, A.B. and Barry-Ryan, C. (2010). Application of response surface methodology to optimize pressurized liquid extraction of antioxidant compounds from sage (*Salvia officinalis* L.), basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Food and function*, 1(3): 269-277.
- Jugl-Chizzola, M., Ungerhofer, E., Gabler, C., Haggmuller, W., Chizzola, R., Zitterl-Eglseer, K. and Franz, C. (2006). Testing of the palatability of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. as flavouring feed additive for weaner pigs on the basis of a choice experiment. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 119(5-6): 238-243.
- Kamel, C. (2001). Tracing modes of action and the roles of plant extracts in non ruminants. *Recent advances in animal nutrition*, pp: 135-150.
- Lee, K.W., Everts, H. and Beynen, A.C. (2004). Essential oils in Broiler Nutrition. *International Journal of Poultry Science*, 3(12): 738-752.
- Lee, S.J., Umamo, K., Shibamoto, T. and Lee, K.G. (2005). Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91(1): 131-137.
- Losa, R. and Kohler, B. (2001). Prevention of colonization of the clostridium perfringens in broiler intestine by essential oils. 13<sup>th</sup> European Symposium on poultry nutrition. Blankenberge, Belgium, pp: 161-167.
- Malik, Y.S., Patnayak, D.P. and Goyal, S.M. (2004). Detection of Three Avian Respiratory Viruses by Single-Tube Multiplex Reverse Transcription–Polymerase Chain Reaction Assay. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 16(3): 244-248.
- Musa, I.W., Abdu, P.A., Sackey, A.K.B., Oladele, S.B., Lawal, S. and Yakubu, I.U. (2010). Outbreak of Velogenic Viscerotropic Newcastle Disease in Broilers. *International Journal of Poultry Science*, 9(12): 1116-1119.

- 
- Rahimi, S., Teymouri-Zadeh, Z., Karimi-Torshizi, M.A., Omidbaigi, R. and Rokni, H. (2011). Effect of the Three Herbal Extracts on Growth Performance, Immune System, Blood Factors and Intestinal Selected Bacterial Population in Broiler Chickens. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13: 527-539
  - Saif, Y.M., Fadly, A.M., Glisson, J.R., McDougald, L.R., Nolan, L.K. and Swayne, D.E. (2008). *Diseases of Poultry*. 12<sup>th</sup> ed., USA: Iowa, IA, Wiley-Blackwell Publishing, pp: 1-1324.
  - Simon, M.S. and Durham, N.C. (2006). Newcastle disease revisited. *World Poultry Journal*, 22: 48-50.
  - Swayne, D., Glisson, J., Reed, W. and Pearson, J. (1998). *A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens*. 4th ed., Florida: Rose Printing, pp: 256-266.
  - Taherian, A.A., Babaei, M., Vafaei, A.A., Jarrahi, M., Jadidi, M. and Sadeghi, H. (2009). Antinociceptive effects of hydroalcoholic extract of *Thymus vulgaris*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(1): 83-89.
  - Voght, H. and Rauch, H.W. (1991). Der einsatz einzelner atherischer ole im geflugelmastfutter. *Lanbauforschung Volkernode*, 41: 94-97.

## **Study on the effects of essential oil of *Thymus vulgaris* after administration of the LaSota vaccine on histopathological status of the trachea, humoral immune system and the performance of broilers**

**Faramarzi, S.<sup>1</sup>, Khaki, A.<sup>2\*</sup>**

- 1- Graduate of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.  
2- Associate Professor, Department of Pathobiology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

\*Corresponding author email: arashkhaki@yahoo.com

(Received: 2014/3/7 Accepted: 2015/12/21)

### **Abstract**

Thyme is a herb with effects on the respiratory system. The aim of the current study was to investigate the effects of thyme essence on trachea, humoral immunity, and the performance of broilers following LaSota vaccination. In this study, 300 Ross 308 broiler chicks were divided into 3 groups of 100 chicken. The first group received 50 ppm thyme essence 2 days prior to and after LaSota vaccination. In the second group only LaSota vaccine was used, and in the third group B1 vaccine was used to compare its severity to the LaSota vaccine. Finally at the end of production period (42 days) samples were taken from trachea for histopathology and also titer of Newcastle vaccine and the performance of chicks were investigated. Results of this study showed that thyme essence decreased histopathologic changes due to vaccination reaction in the trachea. Histopathologic alteration was not observed in B1 vaccination group. In view of feed conversion ratio, feed consumption and final body weight in thyme group there was significant improvement in comparison to LaSota group ( $p<0.05$ ). But use of thyme essence did not have any effect on titer of LaSota vaccine, although mean antibody titer in B1 vaccine group was significantly lower than the other two groups ( $p<0.05$ ). Based on the results of our study, thyme essence improved the performance of broiler chicks and decreased hemorrhage, necrosis, and edema of the trachea due to LaSota vaccine reaction.

**Key words:** Newcastle disease, Thyme herb, LaSota vaccine.