

تأثير المستخلص الزيتي للزنجبيل الأبيض والزعتر على المناعة الخلطية للقاح مرض النيوكاسل في فروج

الحم

فنان ابلحد اسحق دانيال

فرع الأحياء المجهرية ، كلية الطب البيطري ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

(تاريخ الاستلام: ١٩ / ١١ / ٢٠٠٨ ، تاريخ القبول: ٣ / ١ / ٢٠٠٩)

الملخص:

أجريت هذه الدراسة على أفراخ فروج اللحم (عدد ٦٠) بعمر يوم واحد و قسمت بالتساوي الى أربعة مجاميع و كالتالي :-

تم تجريع أفراخ المجموعة الأولى و الثانية بمستخلص زيت الزعتر

وزيت الزنجبيل الأبيض على التوالي بجرعة ١٠٠٠ ملغم من وزن الجسم و من كلا المستخلصين و أعطي المستخلصين عن طريق التغذية الأنبوبية بين يوم و آخر و لمدة ٢٨ يوماً، بعدها تم تلقيح هاتين المجموعتين بلقاح مرض النيوكاسل الحي بعمر ٧ أيام عن طريق التجريع بالفم بمقدار جرعة لقاحية واحدة لكل طير . أما المجموعة الثالثة (السيطرة الموجبة) فقد لفتحت بلقاح مرض النيوكاسل فقط ، في حين تركت المجموعة الرابعة(السيطرة السالبة) بدون معاملة او تلقيح و استمرت التجربة لمدة ٢٨ يوماً (حيث تم استخدام كل من اختباري تثبيط التلازن الدموي و اختبار الإنزيم المناعي المتمز غير المباشر في حساب معيار الاضداد المناعية) و بينت النتائج بان معيار الاضداد (الاستجابة المناعية) في المجموعة الثانية كان اعلى من المجموعة الثالثة بوجود فرق معنوي واضح ، في حين لم يلاحظ وجود أي فرق معنوي في معيار الأضداد بين المجموعتين الأولى والثالثة، و هذا يوضح بأن لمستخلص زيت الزنجبيل قابلية على تحفيز الجهاز المناعي بالمقارنة مع مستخلص زيت الزعتر ، و من ناحية التأثير على أوزان الافراخ فقد كان لكلا المستخلصين في المجموعتين الأولى و الثانية تأثير إيجابي على الأوزان و بفرق معنوي واضح مقارنة بالمجموعة الثالثة، لكن هذه الزيادة كانت أعلى مع مستخلص زيت الزنجبيل(المجموعة الثانية) مقارنة بمستخلص زيت الزعتر(المجموعة الاولى).

Key words:- *Zingiber Officinale* , *Thymus Vulgaris* , Newcastle disease vaccine , Humeral immunity, ELISA , roilers.

المقدمة:

الانزيم المناعي المتمز غير المباشر (ELISA) Indirect enzyme linked immuno-sorbant assay حيث تعتبر هذه الاختبارات من الاختبارات الرئيسية والمهمة في قياس معيار الأضداد وتعطي نتائج و دلالات واضحة ومفهومة عن تلك الأضداد (١) . ونظراً للاهمية الاقتصادية لهذا المرض ولتأثيراته السلبية على مزارع فروج اللحم ولغرض التحري عن بعض المواد التي قد تعمل على تحفيز الحالة المناعية للافراخ فقد تم استخدام مستخلص زيت الزعتر وزيت الزنجبيل الابيض للتحري عن قابليتهما في تحفيز الحالة المناعية للافراخ .

المواد وطرائق العمل:

أ. العلف : تم أستعمال علف الدواجن المركز (ذرة صفراء،حنطة، شعير،صويا،بروتين حيواني،ملح يودي ، كلس، بريمكس (فيتامينات ومعادن)،مثنوينين) في تغذية الافراخ طيلة فترة التربية و تم الحصول عليه من احد حقول تربية الدواجن العاملة في منطقة الحمدانية علماً بان العلف كان نظيفاً وخالياً من أية شوائب .

ب. ماء الشرب: تم أستعمال ماء الحنفية الاعتيادي خلال تربية الافراخ طيلة فترة التجربة .

ج. الأفراخ : تم أستعمال افراخ فروج اللحم (نوع روز) بعد الحصول عليها من احد المفاص العاملة في مدينة الموصل (مفقس الأمين) بعمر يوم واحد ، وتم تربية هذه الافراخ داخل الاقفاص وبواقع ١٥ فرخ في كل قفص مع توفير ظروف التربية الملائمة من حرارة ورطوبة وتهوية،علماً ان التجربة اجريت للفترة من منتصف تشرين الثاني ٢٠٠٧ وحتى منتصف كانون الاول ٢٠٠٧ .

د. لقاح مرض النيوكاسل : تم أستعمال لقاح مرض النيوكاسل الحي عترة Lasota المنتج من شركة CEVA الفرنسية (عدد الجرع :

يعتبر مرض النيوكاسل من الامراض الفايروسية الخطيرة التي تصيب الدواجن والطيور البرية محدثاً خسائر اقتصادية كبيرة ومسبب هذا المرض هو فايروس Paramyxovirus وللمرض ثلاثة اشكال عصبي وتنفسي وهضمي وقد يصيب الانسان مسبباً التهاب ملتحمه العين (١) و(٢) .

ينتشر الزعتر *Thymus vulgaris* في منطقة البحر المتوسط ويتركز الجزء الطبي في أوراق النبات بأكمله (٣) ، واستخدم بشكل واسع كمطهر وطارد للغازات ومضاد للفطريات و الأمراض الجلدية ويستخدم لقتل ديدان الامعاء (٤) ، وله استعمالات في الطب البيطري كمطهر ومضاد للديدان (٣) ، ويستخدم كمضاد جرثومي ايضاً (٥) ويدخل الزعتر في صناعة الادوية و العطور فضلاً عن استخدامه كمحفز للجهاز التنفسي ومنشط للجهاز العصبي أيضاً (٦) كما يستخدم في علاج أمراض الفم والروماتيزم (٧) ، ومن فوائده الأخرى هو السيطرة على ضغط الدم والاسراع من عمل الدورة الدموية وتنظيم وظائف الجهاز الهضمي . اما الزنجبيل *Zingiber officinale* فيعتبر من الاعشاب الطبية الواسعة الانتشار وتوجد انواع عديدة منه (الابيض ، الشامى ، البلدي ، الفارسي) ، ينتمي النبات الى الفصيلة الزنجبيلية وينبت تحت التربة والجزء المستفاد منه هو الجذور حيث يمتلك عروق عقديّة وله رائحة نفاذة وذو طعم لاذع ، اما المواد الفعالة فيه (الجنجرين ، الجنجرول ، صموغ دهنية ، نشأ و زيت طيار مكون من الكامفين و لينالول) وله فعل في تقوية الجهاز المناعي بالجسم اذ يستخدم بشكل واسع النطاق في الانسان (٨)، كما له تاثير مضاد للالتهابات بالإضافة إلى تأثيره المسكن للألام (٩) و(١٠). هناك عدة اختبارات لقياس معيار الأجسام المضادة النوعية الناتجة عن الاستجابة المناعية نتيجة للتلقيح ضد مرض النيوكاسل ومن أهمها ، اختباري تثبيط التلازن الدموي (HI) Hemagglutination inhibition Test وتقنية

هـ. نبات الزعتر (صورة ١) : تم الحصول على المستخلص الزيتي لنبات الزعتر بعد ان تم أستخلاصه حسب طريقة (١٢) وتم أستخدامه بجرعة 1000ملغم / كغم من وزن الجسم (١٣).

1000جرعة / عبوة) ، واعطي اللقاح عن طريق التجريع بالفم بمقدار جرعة لقاحية واحدة لكل طير .



صورة (1) نبات الزعتر

وتم تجريع كلا المستخلصين بالفم عن طريق التغذية الانبوية بين يوم وآخر لمدة 28 يوم، مع حساب الجرعة المعطاة للأفراخ بين يوم وآخر بالاعتماد على وزن الجسم في ذلك اليوم (يوم التجريع) .

و. نبات الزنجبيل (صورة ٢) : تم الحصول على المستخلص الزيتي لنبات الزنجبيل الأبيض بشكل جاهز من احد المعاشب الطبية في مدينة الموصل . وتم استخدامه بجرعة 1000 ملغم / كغم من وزن الجسم أيضاً وذلك لغرض المقارنة مع زيت الزعتر .



صورة (2) نبات الزنجبيل مع جذوره

تلقيحها بلقاح مرض النيوكاسل بعمر سبعة ايام عن طريق التجريع بالفم وبنفس الطريقة اعلاه.

المجموعة الثالثة :- لقحت الأفراخ بلقاح مرض النيوكاسل فقط بعمر سبعة أيام وبنفس الطريقة السابقة (السيطرة الموجبة).

المجموعة الرابعة :- تركت هذه المجموعة بدون معاملة وبدون تلقيح أي اعتبارت مجموعة السيطرة السالبة.

بعدها تم جمع الدم من الأفراخ ومن المجاميع كافة بعمر (١، ٧ ، 14 و 21) يوم لغرض الحصول على عينات المصل و إجراء الاختبارات المصلية عليها .

ح . الاختبارات المصلية المستخدمة لقياس معيار الأضداد :

ز. تصميم التجربة: تم استخدام أفراخ فروج لحم (عدد 60) بعمر يوم واحد وقسمت هذه الافراخ الى أربعة مجاميع (١٥ فرخ لكل مجموعة) وكالاتي:-

المجموعة الأولى :- تم تجريع الافراخ بمستخلص زيت الزعتر بجرعة 1000 ملغم / كغم من وزن الجسم بين يوم و آخر لمدة (28 يوماً) . وتم تلقيحها أيضاً بلقاح مرض النيوكاسل بعمر سبعة ايام عن طريق التجريع بالفم بمقدار جرعة لقاحية واحدة لكل طير .

المجموعة الثانية :- تم معاملة الافراخ بمستخلص زيت الزنجبيل الأبيض بنفس الجرعة السابقة وبنفس الطريقة ولمدة (28 يوماً) أيضاً بعدها تم

بالظهور عند عمر 21 يوم فما فوق ، مع ملاحظة وجود فرق معنوي واضح بين اوزان الافراخ في المجموعة الثانية و المجموعة الاولى. أي ان أعلى معدل للزيادة الوزنية كان في المجموعة الثانية ثم المجموعة الاولى من بعدها المجموعة الثالثة فالرابعة و بفروقات معنوية واضحة (جدول3).
جدول (1) :- معيار الأضداد في مصول الأفراخ للمجاميع الأربعة مقاساً باختبار تثبيط التلازن الدموي باستخدام Geometric Mean Titer (GMT).

معيار الأضداد / بالأيام				المجاميع
21	14	*7	1	
3.3	3.6	2.3	3.0	الأولى
2.3	5.3	0	2.6	الثانية
2.0	3.6	0	3.0	الثالثة
0	0	0	3.0	الرابعة

* عمر التلقيح

جدول (2) :- معيار الأضداد في مصول الأفراخ للمجاميع الأربعة مقاساً باختبار الإنزيم المناعي المتميز غير المباشر ELISA Indirect

معيار الأضداد / بالأيام				المجاميع
21	14	*7	1	
1210 a	1289 c	830 a	1032	الأولى
1177 a,c	1430 a	765 b	1025	الثانية
1149 c	1270 c	772 b	1028	الثالثة
575 b	612 b	761 b	1032	الرابعة

* عمر التلقيح

a,b,c = الأحرف المختلفة تعني وجود فرق معنوي بين المجاميع ضمن العمود الواحد عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$.

1- اختبار الانزيم المناعي المتميز غير المباشر (Indirect ELISA)
 :- تم إجراء هذا الاختبار على عينات المصل للمجاميع كافة و بالاعمار الموضحة في اعلاه باستخدام العدة التشخيصية لهذا الاختبار والمجهزة من قبل شركة جوفاك الأردنية و أجري الاختبار حسب تعليمات هذه الشركة ، بعدها تم قراءة النتائج باستخدام جهاز المطياف الضوئي (ELISA reader) عند طول موجي 450 نانوميتر (مختبر الفايروسات / كلية الطب البيطري / جامعة الموصل).

2- اختبار تثبيط التلازن الدموي (Hemagglutination inhibition Test) (HI) :- تم إجراء هذا الاختبار على عينات المصل اعلاه حسب طريقة(14).

ط. أوزان الأفراخ : تم حساب أوزان الأفراخ في المجاميع كافة اسبوعياً ولمدة (28يوماً) للتعرف على الفروقات في الأوزان إن وجدت بين المجاميع الاربعة.

ي. التحليل الاحصائي : تم تحليل نتائج معايير الأجسام المضادة المقاسة باستخدام اختبار Indirect ELISA وأوزان الأفراخ إحصائياً باستخدام اختبار تحليل التباين (ANOVA) ومقارنتها باستخدام اختبار Duncan عند مستوى احتمالية 0.05 (15).

النتائج:

يتضح من نتائج الجدولين 2 و 1 بان معيار الأجسام المضادة المتكونة بعد التلقيح عند عمر 14 يوم (7 أيام بعد التلقيح) كان مرتفعاً في المجموعة الثانية مع وجود فرق معنوي واضح في معيار هذه الأضداد عند مقارنتها مع المجموعة الثالثة (السيطرة الموجبة) عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$. و في الأسبوع الثاني بعد التلقيح (عمر 21 يوم) و في الجدولين 1 و 2 يلاحظ انخفاض معيار الاجسام المضادة في المجموعة الثانية عند الاستمرار بمعاملتها بمستخلص زيت الزنجبيل بالرغم من التحفيز الجيد الذي أحدثه عند الاسبوع الاول بعد التلقيح ، لكن على العكس من هذه النتيجة فقد كان لمستخلص زيت الزعتر في المجموعة الاولى عند الاسبوع الثاني بعد التلقيح (عمر 21 يوم) تأثيراً ايجابياً في الحفاظ على مستوى الاضداد مرتفعاً مقارنة بالمجموعة الثالثة من جهة و بمستخلص زيت الزنجبيل من جهة اخرى و هذا هو الفرق ما بين تأثير هذين المستخلصين على معيار الاضداد بعد التلقيح (عند الأسبوع الثاني بعد التلقيح). اما من ناحية تأثير هذين المستخلصين على أوزان الأفراخ فيلاحظ وجود فرق معنوي واضح بين اوزان الافراخ في المجموعة الثانية مقارنة بالمجموعة الثالثة منذ عند عمر 4 يوم فما فوق (جدول3) في حين تبدأ الفروقات المعنوية بين اوزان الافراخ في المجموعة الاولى و الثالثة

جدول (3) :- تأثير المعاملة بمستخلص زيت الزنجبيل الأبيض و زيت الزعتر على أوزان الأفراخ مقاساً بال (غم).

- القيم معبر عنها بالمعدل \pm الخطأ القياسي

وزن الجسم غم / اسبوع					المجاميع
28	21	14	* 7	1	
12.5 \pm 725 a	12.5 \pm 437 a	12.5 \pm 240 a	12.5 \pm 123	10.6 \pm 50	الأولى
12.5 \pm 812 b	12.5 \pm 473 b	12.5 \pm 254 b	12.5 \pm 120	10.6 \pm 47	الثانية
12.5 \pm 620 c	12.5 \pm 372 c	12.5 \pm 202 a	12.5 \pm 104	10.6 \pm 53	الثالثة
12.5 \pm 523 d	12.5 \pm 342 c,d	12.5 \pm 195 a	12.5 \pm 106	10.6 \pm 49	الرابعة

* عمر التلقيح

a,b,c,d = الأحرف المختلفة تعني وجود فرق معنوي بين المجاميع ضمن العمود الواحد عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$.

المناقشة:

المستخلص قبل ومع عملية التلقيح مع تجنب اعطائه بعد ذلك للمحافظة على تأثيره الايجابي على الجهاز المناعي للجسم. لكن كان لمستخلص زيت الزعتر فعل و تأثير معاكس تماما لما كان عليه مستخلص زيت الزنجبيل بعد التلقيح حيث كان له تأثير جيد في المحافظة على مستوى الاضداد مرتفعا و لفترة اطول و هذا يعطي صفة جيدة لهذا المستخلص و قد يعود السبب في ذلك الى المواد الاساسية الذي يحتويها هذا المستخلص مثل الفينولات (الثايمول) والكارفاكرول (و المواد الراتنجية (التانين) و الثايمين ، و الفلافونيدات، كما يحتوي مستخلص زيت الزعتر على فيتامين E (13) اما اوزان الافراخ فقد تأثرت ايجابيا بهذين المستخلصين مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة والسالبة وربما يعود السبب في ذلك الى الفعالية التي يمتلكها الزعتر في التأثير على الجهاز الهضمي و زيادة الشهية مع زيادة استهلاك المواد العلفية و زيادة معامل التحويل الغذائي وبالتالي زيادة وزن الافراخ (17) و (18) فضلا عن تحسينه للكفاءة الغذائية للافراخ (19) لكن معدل الزيادة الوزنية كان اعلى مع مستخلص زيت الزنجبيل مقارنة بمستخلص زيت الزعتر و قد يعود السبب في ذلك إلى التأثير الجيد لهذا المستخلص في زيادة شهية الافراخ و استهلاك العلف و بالتالي حدوث الزيادة الوزنية لكن بمعدل اعلى من مستخلص زيت الزعتر.

اوضحت نتائج هذه الدراسة بان معيار الاجسام المضادة المرتفع بشكل ايجابي و جيد في المجموعة الثانية و الذي احدثه التجريع بمستخلص زيت الزنجبيل ربما يعود السبب فيه الى مميزات و صفات هذا المستخلص و التي تجعله ذات تأثير جيد و فعال على وظائف مختلفة في الجسم حيث ان قلة المعلومات المتوفرة عنه وربما تأثيره على الجهاز المناعي في الجسم ادى الى تصميم هذا البحث لدراسة هذا التأثير وقد يعود السبب في هذا التأثير الجيد والايجابي الى المواد الاساسية التي يحتويها مثل الجنجرين و الجنجروول و الكامفين واللينالول (8) حيث كان لهذه المواد دور كبير في تحفيز الجهاز المناعي للافراخ من خلال رفع معيار الأجسام المضادة لمرض النيوكاسل بعد التلقيح ، لكن عند قياس معيار الأضداد عند الأسبوع الثاني بعد التلقيح و بالرغم من اختلاف الاختبارات المستخدمة في قياس معيار الأضداد و حساسية هذه الاختبارات سواء اختبار HI او ELISA (جدول 1 و 2) يتبين بان مستوى الاجسام المضادة يهبط عند استمرار تجريع الافراخ بمستخلص زيت الزنجبيل و قد يعود السبب في ذلك الى احتمالية تأثير هذا المستخلص او احدى المواد التي يحتويها هذا المستخلص على الاجسام المضادة بشكل سلبي لذلك يفضل اعطاء هذا

المصادر:

- 5- Yano Y., Satomi M., Oikawa H.(2006). Antimicrobial effect of spices and herbs *Vibrio parahaemolyticus*. Int. J. Food Microbiol. Aug15; 111(1) : 6-11. Epub. 2006 . Jun , 22 .
- 6- Harvey W.F. and John U.L. (1998). The herb of *Thymus vulgaris*. Med. Plant ,205.
- 7- Norbert S . , Peter S . , Janos M. , Peter P. and Laszlo C . (2003). Effect of Thymol on Kinetic properties of Ca and K currents in rat skeletal muscle. BMC. Pharmacology ,3:9.
- 8 - نعمان، عدي طلعت، علي، جدعان علي، أبراهيم، يونس ابراهيم (2006). استخدام مستخلص الزنجبيل الأبيض *Zingiber Officinale*

- 1- Beard C.W. (1992). Newcastle Disease. In: Veterinary Diagnostic Virology Castro, A.E Heuschele, W.P.(Eds.) Mosby Yearbook , Missori. PP 54-56.
- 2- البارودي ، صفوان يوسف (2001) . دراسة مقارنة للقاحات المتوفرة في القطر للسيطرة على مرض النيوكاسل ، رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري ، جامعة الموصل .
- 3- Mossa J.S.(1987).Medicinal plants of Saudi Arabia. Published by King Saudi University Libraries, Riyadh, PP. 244.
- 4- Lucinda J. (2004). The two sides of Thyme. Enigma Communication. 6. WWW.cookingschool.com.

14- Ravoza G.C. and Burke C.N.(1973) in Manual of basic virological technique.

15 - Steel R.G.D. and Torrie J.H.(1980). Principles and procedures of statistics 2nd ed , McGraw-Hill Company , Inc., London.

16-Das S., Sharma K., Sarmah K., kalita N.(1997). Correlation of HI and ELISA Tests for detection of Newcastle disease virus Antibodies Indi.j. Ani.Sci.67(4): 286-287

17- النعيمي ، سعد محمد علي (1999). تأثير بعض النباتات المخفضة لكلوكوز الدم في بعض الصفات الفسلجية والكيميائية الحياتية ومعامل التحويل الغذائي لدجاج اللحم ، رسالة ماجستير ، كلية الزراعة، جامعة الموصل، العراق.

18- Hernandez F., Madrid J., Garcia V., Orengo J., Megias M.D.(2004). Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. Poult Sci. Feb, 38(2):169-74

19- Fekete S. and Lebas F. (1983). Effect of a natural flavour (thyme extract) on the spontaneous feed ingestion , digestion coefficients and fattening parameters. Mag. All. Lapja, 38: 121-125.

لتحسين صفات السائل المنوي المحفوظ بدرجة حرارة 4 م. المؤتمر العلمي الرابع ، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل.

9- Lantz R.C., Chen G.J., Sarihan M., Solyom A.M., Jola S.D., Timmermann B.N. (2006). The effect of extracts from ginger rhizome on inflammatory mediator production .phytomedicine. May16,[Epub ahead of print].

10- Ojewole J.A. (2006). Analgesic, anti-inflammatory and hypoglycemic effects of ethanol extract of Zingiber officinale (roscoe) rhizomes (zingiberaceae) in mice and rats. Phytother Res.Jim28; [Epub ahead of print].

11- Hansson E., Young J.G., Hooper P.T., Dellaporta A.J. (1999).Virulence and transmissibility of some australian and exotic strain of Newcastle disease virus used in some vaccines. Aust. Vet .j . (77) (1) :51-52.

12- سعد الدين ، شروق محمد كاظم (1986). الاعشاب الطبية ، دار الشؤون الثقافية العامة.

13 - توفيق ، فدوى خالد (2002). تأثير الكسبرة والزعتر وكبيرينات الفناديل وتكتسات الصوديوم وتداخلاتها على بعض الجوانب الفسلجية والكيميوحياتية لفروج اللحم ، اطروحة دكتوراه ، كلية الطب البيطري ، جامعة الموصل ،العراق.

Effect of oily extract of *Zingiber officinalis* and *Thymus vulgaris* on humoral immunity of Newcastle disease vaccine in broilers

Department of Microbiology , College of Veterinary Medicine, University of Mosul , Mosul , Iraq
(Received 19 / 11 / 2008 , Accepted 1 / 3 / 2009)

Abstract

This study were done on broilers (No. = 60) 1day old , divided in to 4 groups:-

1st & 2nd group were drenched with oily extract of *Thymus vulgaris* and *Zingiber officinalis* (dosage: 1000 mg/kg B.W) from both extract respectively using gavage needle for 14 time each 48 hours and then this tow groups were vaccinated with Newcastle disease vaccine at 7 day of age orally, 3rd group (control positive) were vaccinated only with Newcastle disease vaccine, while the 4th group considered as the (negative control) (non treated) . the HI & ELISA tests are used for the titration of antibodies. the experiment continued for 28 days.

The result showed significant increase in the antibodies titer of 2nd group in comparison with 3rd group. While there is no significant change of the antibodies titer between 1st & 3rd group. This result ensured that the effect of *Zingiber Officinalis* in the stimulating of immune system in comparison with *Thymus Vulgaris*. both extract in the 1st & 2nd group showed significant increasing of the body weight in comparison with 3rd group & the increasing of the body weight in the 2nd group is significantly higher than the 1st group.