

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوکاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

اعتمدت المنتجات الطبيعية النباتية والاعشاب الطبية كمحفزات لنمو الطيور الداجنة بدلاً عن المضادات الحيوية في السنوات الأخيرة أذ أن هذه المنتجات تميز بعدم ترسب متبقياتها في لحوم ومنتجات الدواجن وعدم نشوء المقاومة من قبل الاحياء المجهرية في جسم الطائر لهذه المنتجات من جراء الاستعمال المستمر لها في غذاء الطيور (Sogut, et al 2012) تعد الحبة السوداء(*Nigella sativa*) من اهم المنتجات التي تستعمل كإضافات علفية للدواجن وذلك لما تحويه من مركبات فعالة مثل النجلون (*Nigellone*) والكلوتاثيون (*Glutathione*) والثايموكوينونين (*Thymoquinone*) وهذه المركبات هي مضادات اكسدة طبيعية تسهم في حماية انسجة الجسم من اضرار الاكسدة والجذور الحره والمواد الغريبة (Nagi, et al 1999). تتميز الحبة السوداء بتأثيرها الفعال في زيادة اعداد خلايا الدم الحمر في فروج اللحم بسبب احتوائها على العديد من العناصر المعدنية كالحديد والنحاس فضلاً على احتوائها على تراكيز عالية من الاحماض الدهنية الاساسية والدهون الفسفورية المهمة لبناء الجدار الخلوي لأنسجة الكائن الحي (العلاني ، 1998). فهي تحتوي على (0.5-1.6) من الاحماض الدهنية الطيارة، وقلويات وصابونين وستيرولات وكينين *quinines* اذ تستخدم في الطب التقليدي كمضاد التقلصات وكطرادات للطفيليات وكمطهرات ولعلاج التهاب المفاصل وكمشهي وفي حالات الشد العصبي وفي علاج الحبن والربو وحطاطات التهاب الجلد. (AL-Homidan et al., 2002) كما تساعد على تحسن الكفاءه الإنتاجية والمناعية للدواجن (العيدي, 2005). ومن خلال تأثيرها الايجابي في الجهاز المناعي وتعزيز المناعة للحصول على افضل استجابة مناعية فضلاً عن فعاليتها المضادة للميكروبات (Haq,et al 1995). كما تعمل بذور الحبة السوداء او مستخلصاتها كمضادات بكيرية (Wenk, 2003).

يعود نبات الحبة السوداء الى العائلة الشفافية وهي عبارة عن نباتات عشبية وحولية متوسطة النمو ، وللنباتات اوراق مجزأة الى اجزاء دقيقة وازهارا بيضاء اللون مزرقة قليلا او نجمية الشكل (الخطيب,1988) تمتلك بذورا سوداء اللون صغيرة الحجم هرمية الشكل خشنة الملمس لها رائحة عطرية مميزة وطعم لاذع وعند شطر البذرة الى جزأين نجد انها مجزأة (من الخارج الى الداخل) السطح الخارجي اسود اللون ثم يليه جزء ابيض ويمثل لب الحبة السوداء ويشمل معظم محتوياتها الداخلية والجزء هو رمادي اللون يقع بين الغلاف الخارجي واللب الاسود واللب الداخلي الأبيض (سامي, 1993).

ان هذه الدراسة تهدف الى استعمال الحبة السوداء كإضافات علفية لرفع الاستجابة المناعية للدواجن لمقاومة الامراض الفتاكة مثل مرض النيوکاسل للتقليل او الحد من استخدام الادوية والمضادات الحياتية المستعملة والتي لها الكثير من الاضرار على صحة الانسان كونها تترك متبقيات في المنتج النهائي للدواجن، وكذلك لتسجيل الزيايده الوزنیه الاسبوعية.

استعراض المراجع

1.2 تعريف مرض النيوکاسل

سجلت اول حالة خمج بهذا المرض عام (1927) في مقاطعة نيوکاسل في انكلترا (Alexander, 1992)، ويعرف على انه مرض حمي مهلك شديد العدوى يصيب جميع انواع الطيور الداجنة، وانواع عديدة من الطيور البرية (Seal & King, 2005) وبعد الدجاج الاكثر استعداداً للخمج بالمرض واظهار العلامات السريرية (Maas et al, 2003)، ويتسبب المرض

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوكاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطر بالعين

عن الخمج بحمة البارامكسو النمط المصلي الاول Paramyxo virus type 1 (Alexander,2001).

2.2 المسبب المرضي

1.2.2 تصنیف الحمة

صنفت حمة النيوكاسل على انها أحد إفراد عائلة Paramyxoviridae العائدة الى ما فوق العائلة Monoegavirales (Zhao & Peeters, 2003) وتحت العائلة Paramyxovirina والتي قسمت الى ثلاثة انماط اولية (Prototype) التي اشتغلت على:-

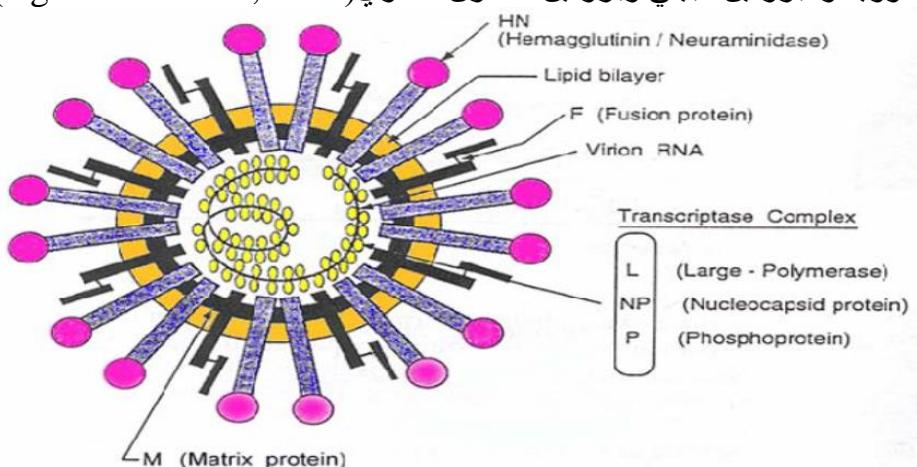
.1. (Morbilivirus).

.2. (Pnemo Virus).

.3 (Paramyxo Virus) (Alexander, 2000)

2.2.2 شكل الحمة وتركيبها

تمتاز حمة النيوكاسل بأشكالها المتغيرة Pelomorphic على الرغم من الشكل الخطي، والكروي مما الاكثر شيوعاً ويتراوح قطر الحمة الناضج (Virion) من 500-100 نانومتر تحتوي الحمة على المادة الوراثية (Genome)، وهو عبارة عن شريط مفرد للحامض النووي الريبي (RNA) غير المقسّم ويحاط هذا الحامض ببروتين مكوناً ما يسمى بالمحفظة النووية (Nucleocapsid) وتكون ذات تناسب حلزوني (Helical Capsid Symmetry) (Oldoni et al, 2005)، وتحاط بخلاف بروتيني شحمي (Spike) يحتوي الغلاف على بروتينات سكرية (Glycoprotein) سطحية الموضع فعاله تكون على شكل بروزات جانبية قصيرة أشبه بالاشواك (Alexander, 2001) (Spike), احدهم هو البروتين السكري المسؤول عن التصاق الحمة بمستقبل الخلية (Haemagglutinine & Neuraminidase- HN) ويعتقد له دور في الضراوة (Deleeuw et al, 2005)،اما البروتين السكري الآخر فهو بروتين الالتحام والمسمي (F- Protein)، وهو المسؤول عن التحام الحمة بالخلية المصيفه وكذلك بروتين المحفوظة النووية والبروتين البياني وبروتين التلازن الدموي (Ogasawara et al , 1998).



شكل رقم(1-2) يوضح التركيب التخطيطي لجزيئات فايروس مرض النيوكاسل.(Shnyrova et al., 2007).

3.2 الخصائص البيولوجية والفيزيائية للحمة

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوكاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

1.3.2 القابلية على تلزين خلايا الدم الحمر

لعتر الحمة القابلية على تلزين خلايا الدم الحمر لكل البرمائيات وبعض اللبائن مثل الفئران، خنزير غينيا والانسان (Alexander, 2003) وتعرف خاصية التلازن بأنها عبارة عن التصاق الحمة بسطح خلايا الدم الحمر عن طريق المستقبلات الخاصة بها على سطحها. ويختلف المستضد الحمي الملازن للخلايا في مختلف العتر من حيث مقاومته لدرجة حرارة، وكذلك قابليته لاحادث تلازن كريات الدم لبعض انواع الثدييات ولكن هذه الاختلافات لا ترتبط بعلاقة مباشرة مع شدة ضراوة عتر حمة مرض نيوکاسل المختلفة (Hanson, 1972).

2.3.2 خاصية تحرير الحمة عن سطح خلايا الدم الحمر

تحطيم المستقبل على سطح الخلية بوساطة خميره Neraminidase يؤدي الى تحرير الحمه، وتسمى هذه الخاصية بالشطف Elutio وتأثر هذه الخاصية بانخفاض درجة الحرارة دون (37 درجة مئوية ، ومدى ضراوة العترة (Ezeibe, 2005).

3.3.2 خاصية امتزار خلايا الدم الحمر Haemadsorption

عبارة عن التصاق خلايا الدم على سطح الخلايا المخمجة بالحمة، وان سرعة امتزار الخلايا الحمر تعتمد على عتر الحمة، فالخلايا المخمجة بالعتر ضعيفة الضراوة تستغرق وقتاً اطول لامتزاز عما تستغرقه الخلايا المخمجة بالعتر الضاريه، ويعتقد ان سبب الاختلاف يعود الى كمية الانتجين المنتج من مختلف عتر الحمة الموجود على جدران الخلايا المخمجة (OIE,2005).

4.3.2 خاصية التحلل الدموي Haemolysis

لحمة النيوكاسل القابلية على حل خلايا الدم الحمر التي تلزنت، ويعود سبب التحلل الى تكسر جدران الخلايا الحمر، وتحرر الهيموكلوبين(Alexander, 1997).

5.3.2- قابلية احداث البقع Plaque Formation

للحمة القابلية على احداث انواع من البقع على اوساط الزرع النسيجي، وخلايا كلية اجنة الدجاج وتستخدم لوصف ضراوة الحمة، حيث ان قابلية حمة مرض نيوکاسل لاحادث البقع تتناسب مع شدة ضراوته، فالعتر الضاريه تنتج انواعاً من البقع مختلفة الاحجام على خلايا الزرع النسيجي بينما العتر ضعيفة الضراوة ليست لها هذه القابلية (Hofstad *et al* , 1978).

6.3.2 خاصية انتاج الانترفيرون

لحمات النيوكاسل الحية القابلية على تحفيز الخلايا لانتاج الانترفيرون، وان كمية الانترفيرون المنتج حسب العتر، فالعتر الضاريه تنتج كميات كبيرة، اما العترضعيفة تنتج كميات اقل (Jacob, *et al* 2001).

4.2 - المقاومة للعوامل الفيزيائية والكيميائية:-

تفقد خمجية الفايروس بصورة كلية عند(100) م° خلال دقيقة ، وعند(56) م° ولمدة (5-6) ساعات تفقد خاصية التمنيع (Immunogenicity)، وخاصية التلازن، عملية الاكسدة. اما العوامل الكيمياوية مثل الفورمالين، الفينول، بيتا- بروبيولاكتون فلها القابلية على تدمير خمجية الحمة مع المحافظة على خاصية التمنيع ضمن تراكيز معينة (Zee, 2004 ,).

5.2 مدة الحضانة Incubation Period

مدة الحضانة تعتمد على عدة عوامل تؤثر على طول، أو قصر هذه المدة منها عمر الطير، مدى ضراوة العترة، الجرعة، طريقة دخول الحمة، الحالة المناعية للطير، التعرض المسبق للحمة .(Jordan, 1990)

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوكاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

6.2 الامراضية Pathogenicity

تقاس الامراضية بقابلية الحمة على احداث الخمج كالعلامات العصبية مثل الشلل، والرعشة، والتلواء الرقبة والعلامات التنفسية التي تكون اما واضحة او قليلة (Alexander, 2000)، وتختلف العتر بميلها لخمج الانسجة المختلفة لكن معظمها عزلت من القصبة الهوائية، والمجمع في بعض العتر غير الضاربة تصيب الامعاء فقط، بينما الضاربة منها تسبب خمج شديد للجهاز التنفسى اذ يحدث الخمج عن طريق دخول الحمة للجهاز الهضمى عن طريق تناول الطير المواد الملوثة وبجرعة عالية من الحمة، او عن طريق الجهاز التنفسى وتكتفى جرعة قليلة من الحمة بهذه الطريقة لاحادث المرض، اذ تتكاثر في منطقة دخولها ، ثم تصل الى جهاز الدوران خلال 24 ساعة وتمتاز الحمة بميلها تجاه خلايا الدم الحمر، حيث يساعد جهاز الدوران على انتشارها الى معظم الاعضاء الداخلية (Grasso, 2003)، وجود الحمة بالدم يؤدي الى حدوث Viremia وتتكاثر في الاعضاء المفضلة كالجهاز الشبكي البطاني وخاصة الطحال (Alexander, 2003)، اذ يرتفع معيار الحمة في هذه الانسجة ويصل اعلى معيار لها بعد (3-4) يوماً ثم تعود الحمة الى الدم مرة ثانية ولكن بتركيز اعلى مسببة المرحلة الثانية من الـ Viremia التي يصاحبها ظهور العلامات السريرية والتغيرات المرضية في الاشواء الداخلية (Fenner *et al*, 1993).

تبدأ الاستجابة الخلطية حال تحفيز الخلايا الملمفية، ولا تظهر قبل اليوم الرابع وغالباً تلاحظ بعد اليوم السابع (Paredes & Young, 1990)، ان العتر طفيفة الضراوة تتميز بأن حجمها المعياري يكون عالي في منطقة دخول الحمة عكس العتر الضاربة التي تسبب تغيرات كثيرة عند تكاثرها في الاشواء الداخلية، كما ان العتر الضاربة لها القدرة على تحطيم الحاجز الدموي الدماغي ، والمرور خلاله نتيجة تحطيم الخلايا المبطنة للاوعية الدموية، وخلايا المتن (Paranchymal Cells) بينما العتر المتوسطة والضعيفة الضراوة ليس لها القدرة على تحطيم هذا الحاجز وان التصاق الحمة يؤدي الى تلف بطانة الاوعية الدموية، وبالتالي صعوبة التنفس نتيجة تلف مركز التنفس وحدث نزف حبرى وأحتقان الرئتين (Ritchie & Harrison , 2004).

7.2 اشكال المرض

اعتماداً على العلامات السريرية والتغيرات المرضية العيانية، والعتر المسببة للمرض صنف الباحث (Alexander, 1997) مرض النيوكاسل الى:

1.7.2 شكل دويل Doyles Form

يسما ايضاً بالشكل الآسيوي، أو مرض نيوکاسل الاشتائي الذي تسببه عتر ضاربة لها ميل لخمج الاشواء الداخلية (Viscerotrophic Velogenic Strain)، ويصيب الطيور بجميع الاعمار مسبباً هلاكات عالية في الافراخ غير الملقحة ويتميز بوجود تقرحات نزفية في المعدة الحقيقية والقانصة والجريبات الملمفية في الامعاء ومنطقة اللوز الاعورية (Alexander, 1997).

2.7.2 شكل بيج Beachs Form

تسببه عتر ضاربة لها ميل لخمج الجهاز العصبي Neurotropic Velogenic Strains، يصيب الطيور بجميع الاعمار ويسبب ظهور علامات تنفسية وعصبية (Alexander, 1997)، ولا توجد تقرحات نزفية في الجهاز الهضمى (Whittle, 2004).

3.7.2 شكل اسيكس :Essex Form

الجهاز التنفسى هو المستهدف الرئيسي، و يسبب هلاكات عالية .(Alexander & Allan, 1974)

4.7.2 شكل بيوديت Beaudettes Form

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوکاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

وتسببه عتر متوسطة الضراوة ويمتاز بظهور علامات تنفسية تليها علامات عصبية لاسيما في الأفراخ صغيرة الاعمار (Bohara, 1997)، ولا يسبب هلاكات عالية في الدجاج البالغ الا في حالة وجود اخماج ثانوية، أما اهم التغيرات المرضية فهي احتقان الاكياس الهوائية وعثامتها ، وقد تتحتوي على نضج اصفر ، وإحتقان الرغامي (Alexander, 2003).

5.7.2 شكل هيشرن Hitchiners Form

تسببه عتر ضعيفة الضراوة Lentogenic Strain التي تستخدم في انتاج اللقاحات الحية المضيفة، ويتميز بوجود علامات تنفسية طفيفة في الأفراخ صغيرة العمر، ولا تلاحظ أية علامات عصبية او هضمية ويتميز بهبوط مفاجئ في انتاج البيض (King, 2005).

6.7.2 الشكل اللاعراضي Asymptomatic Form

يتميز بعدم ظهور علامات سريرية على الأفراخ (Alexander, 2003).

8.2 ضراوة حمة مرض نيوکاسل

تظهر عتر الحمة اختلافات واسعة في الضراوة، كما تتميز بوجود اختلافات مستضدية Wissman, 2002 Antigenic Variation وتنقسم عتر الحمة حسب شدة المرض الى:-

1- عتر ضاربة (Velogenic Strains).

2- عتر متوسطة الضراوة (Mesogenic Strains).

3- عتر طفيفة الضراوة (Lentogenic Strains).

تختلف العتر بميلها لخمج اجهزة الجسم، فمنها من يصيب الاحشاء الداخلية (Viscerotropic)، واخرى لها ميل لخمج الجهاز العصبي (Neurotropic) بينما تمثل عتر اخرى لخمج الجهاز التنفسي (Olavs *et al*, 2003) Pneumotropic.

9.2 مؤشرات الضراوة Pathogenicity Indexes

بين الباحث (Huang *et al*, 2003) مؤشرات من خلالها تحدد ضراوة عتر حمة نيوکاسل هي:

1- متوسط الوقت اللازم لقتل اجنة الدجاج Mean Death Time

2- المؤشر المرضي عند الحقن بالدماغ Intracerebral Pathogenicity Index

3- المؤشر المرضي عند الحقن بالوريد Intra Venus Pathogenicity Index

4- المؤشر عند الحقن في المجمع Intra Cloacal Pathogenicity

10.2 العلامات السريرية Clinical Signs

تشمل العلامات السريرية العلامات التنفسية، والهضمية، والعصبية. أما العلامات السريرية التنفسية فتتمثل بصعوبة التنفس، والعطاس، والحرارة، وتزول الأفرازات من المنخرین مع وذمة في منطقة الرأس، وحول العينين، وقد يحدث ال�لاك بسبب فشل التنفس (Whittle, 2004). العلامات الهضمية تشمل الاسهال الأخضر الذي قد يصاحبه دم في حال الخمج بالعترة الاحشائية الضاربة (Gardner, 2003). وتشمل العلامات العصبية على ارتتجاف العضلات، وشلل الارجل وأحياناً الاجنحة. التواء الرقبة يظهر اذا طلت مدة المرض، وقد يحدث ال�لاك سريعاً بعد (3-1) ايام من العلامات السريرية (Grasso, 2003) وتتسبب العتر الضاربة بظهور المرض بصورة مفاجئة، وحدوث نسبة هلاكات عالية والطيور التي تظهر علامات عصبية ولم تتفق نادراً ما تشفى وتبقي مسلولة (Spradbrow, 2002).

العتر متوسطة الضراوة تسبب حدوث علامات تنفسية في الطيور صغيرة العمر، اما الخمج في الطيور البالغة فيؤدي الى انخفاض حاد في انتاج البيض مع إحتمال وجود علامات تنفسية ونادراً ما

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوکاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

تلاحظ علامات عصبية، وتكون نسبة الهلالات قليلة. بسبب العتر ضعيفة الضراوة بظهور علامات تنفسية بسيطة، وشديدة في الطيور الحساسة للخمج خاصة في حالة الخمج بالعتر الأكثر إمراضية مثل عترة لاسوتا مع وجود اخماج بكتيرية ثانوية مثل عصيات القولون *E.coli* ، والباستوريلا *Pasteurella* او الخمج بالمايكوبلازما وعادة الهلالات قليلة، او نادرة (King *et al*, 2005).

2.11 الآفات المرضية Gross Lesson

يعتمد ظهور وشدة الآفات المرضية التي تسببها الحمة على الحالة المناعية للطيير، ونوع العترة، وعمر الطير، وطريقة دخول الحمة وجرعتها(Spradbrow, 2002)، وتتمثل الآفات المرضية في حالة العلامات التنفسية باحتقان ونزف في القصبة الهوائية، والمرات التنفسية، والحنجرة وقد يلاحظ تثخن الاكياس الهوائية مع احتواها في بعض الاحيان على نضج مصلى ، أو متجين (Hooper *et al*, 1999) أما الآفات المرضية في القناة الهضمية فتتمثل بالآفات النزفية ذات العلاقة بتتخر جدران الأمعاء كذلك الآفات النزفية في مخاطية المعدة الغدية، القانصة، بقع نخرية على الكبد والطحال (OIE,2005)، ولا تلاحظ آفات عينية في الجهاز العصبي المركزي للطيور المخمرة وعادة تكون العتر في العراق من النوع العصبي الاحشائي ، وتسبب تقرحات نزفية في الجهاز الهضمي مثل عترة AG68 (Husain, 1980).

2.12 التغيرات النسيجية Histopathology

لا توجد آفة نسيجية خاصة لتفريق مرض نيوکاسل عن المسببات المرضية المشابهة له، وتعتمد على ضراوة العترة لكن من أهم التغيرات النسيجية التي يمكن مشاهتها في الجهاز الهضمي هي نزف، وتتخر، ووذمه في التجمعات اللمفية في جدار الأمعاء لاسيما لطخات باير Payers Patches، واللوز الاعورية Cecal Tonsils وحدوث تكبس كامل لها وإستبدالها تدريجياً بمادة الليفين كما يمكن مشاهدة نزف حبرى وكدمات صغيرة، وبعض الاحيان تقرحات في مخاطية المعدة الحقيقة والتجمعات اللمفية حول فتحات الغدد المخاطية، وحدوث نخر في النسيج الغدي تحت الظهاري وتجمع الخلايا اللمفية أسفل الظهارة (Steneroden *et al*, 2004).

وفي الجهاز التنفسى لاسيما الجزء العلوي، يلاحظ تغيرات نسيجية شديدة متمثلة بأحتقان وأحياناً نزف في المنطقة المخاطية وتحت المخاطية مع وجود الوذمة بينها، وتواجد الخلايا الالتهابية في الطبقة تحت المخاطية للقصبة الهوائية، الرئتين والاكياس الهوائية (Nakamura *et al* , 2000), بالإضافة إلى انتشار البؤر المتاخرة في أعضاء مختلفة مثل القلب، والرئتين، والكبد، والبنكرياس، والمرارة والخلايا الشبكية المبطنة والخلايا اللمفية للطحال، وجرايب فابريشيا وغدة التوتة (OIE, 2005) (thymus).

13.2 التشخيص Diagnosis

1.13.2 التشخيص الحقلى Field Diagnosis

يشخص مرض نيوکاسل حقلياً اعتماداً تاريخ الحالة المرضية ، والعلامات السريرية التي تعتمد شدتھا على شكل المرض، وضراوة الحمة ومستوى مناعية الأفراخ وقت تعرضاً للخمج، ومن ابرز العلامات السريرية في الأفراخ غير المحسنة او التي حصانتها غير كافية للحماية هي نسبة الهلالات العالية، وسرعة انتشار المرض، والخمول، والاسھال المائي المخضر، والعلامات التنفسية كصعوبة التنفس، والافرازات المخاطية من المنخرین، واحتقان الجفون، العلامات العصبية كالتواء الرقبة، وشلل الاطراف والاجنحة (Flensburging, 2001).

2.13.2 التشخيص المختبri

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوكاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

1.2.13.2 عزل الحمة Virus Isolation

لغرض عزل الحمه تؤخذ مسحات من الرغامي، فتحة المجمع، او الفضلات للطيور الحية المخمة لأن الحمة تتکاثر بالدرجة الاساسية في القناة الهضمية والتنفسية. اما العينات المأخوذة من الھلاکات فيشترط اخذها من الطيور الھلاکة حديثاً واعتماداً على العلامات السريرية التي اظهرتها قبل هلاکها وتشتمل على الرغامي، الرئتين في حالة وجود علامات تنفسية بالإضافة الى الكبد والطحال واما عند وجود علامات عصبية كالتواء الرقبة فيؤخذ الدماغ للعزل، وتجمع العينات في المراحل المبكرة للمرض (Alexander, 2003).

2.2.13.2 تربية الحمة Virus Culture

تستخدم اجنة بيض الدجاج النامية بعمر (11-9) يوما، ويلعب دوراً مهما مستوى المناعة الامية في هلاك الاجنة، كذلك تستخدم خلايا الزرع النسيجي بانواعها وتعد الارومات الليفية لاجنة الدجاج Chicken embryo Fibroblast اكثرها استخداماً، وتنتمي العتر الضاربة والمتوسطة الضراوة بسهولة النمو على خلايا الزرع النسيجي بدون أي اضافات عكس الضعيفة، ويستغرق عزل وتنميته الحمة من (5-3) ايام او عدة اسابيع، (Alexander, 1998).

3.2.13.2 الاختبارات المصلية:-

1.3.2.13.2 اختبار التلازن الدموي (HA) Haemagglutination Test

بعض المسببات المرضية ومنهم حمة نيوکاسل، لها القابلية على تلزين خلايا الدم الحمر للطيور وبعض اللبائن، وتعد هذه الخاصية هي أساس اختبار اثبات التلازن (Yong *et al*, 2002). تزداد سرعة التلازن عند استعمال المادة المخففة الحاویة على الكهارل مثل كلوريد الصوديوم، وللحرارة تأثير على سرعة التلازن اذ يحصل شطف للخلايا المتلazine بسبب فعالية النيورامينیديز، لذلك فعالية التلازن تقاس بمحض الطبق ب(4^+ م°) لتبسيط فعالية الانزيم، وتكون قراءة النتيجة بحسب أعلى تخفيف للم)test يعطي تلازناً كاملاً (Chandra *et al*, 2001).

2.3.2.13.2 اختبار اثبات التلازن الدموي (HI) Haemagglutination Inhibition

اختبار سريع وبسيط وغير مكلف، يستعمل في تشخيص الخمج بحمة النيوكاسل وقياس الاستجابة المناعية بعد التلقيح، ونادرًا ما تشخص الاضداد بهذا الاختبار قبل اليوم السابع، ويستخدم لتفريغ الخمج بالنيوكاسل عن بقية المسببات التي تلزن خلايا الدم الحمر مثل حمة انفلونزا الطيور، حمة التهاب القصبات المعدى، والمايكوبلازمـا (Steneroden *et al*, 2004) ويعتمد الاختبار على الاضداد في مصل دم الطيور والتي تمنع حمة النيوكاسل من تلزين خلايا الدم الحمر (Bozorghmehrifardl & mayahi, 2000), وهناك عوامل تؤثر على معيار الاضداد المقاسة مثل عترة الحمة، ونوع الطيور، وبرنامج التلقيح، وجرعة اللقاح، وطريقة دخول الحمة و يكون معيار الاضداد بين (2^6 - 2^4) للطيور الملقة باللقاح الحي المفرد و (2^9 - 2^{11}) اذا استخدم اکثر من لقاح (Jordan, 1990) ويعطي الاختبار نسبة خطأ قليلة بسبب الـ (Cross Reaction) بين عترة حمة النيوكاسل، والطرائق المستخدمة هي طريقة ألفا (α) التي تمثل بتخفيف الحمة تخفيفاً ثانياً ثم إضافة كمية معلومة وثبتة من مصل مرجعي ضد مرض نيوکاسل (OIE, 2005)، أما طريقة بيتا (β) وهي الطريقة الأكثر استعمالاً من طريقة ألفا، وتتضمن تخفيف المصل تخفيفاً ثانياً ومن ثم إضافة كمية معلومة، وثبتة من الحمة (Desousa *et al*, 2000) وإن نتيجة الاختبار تستخدم كدليلًـا للحالة المناعية للطيور ويعد المستوى المناعي جيداً اذا كان معيار اثبات التلازن

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوكاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

(²⁴)، أو أكثر عند استخدام (4) وحدات تلازنية (HA) أما أقل معيار مسجل قد يوفر الحماية من العتر الضاربة فهو (²³). Abdalla et al, 1999).

3.3.2.13.2. تقنية الانزيم المناعي الممتنع غير المباشر Indirect enzyme- Linkage

Immunosorbant Assay ELISA

يعد هذا الاختبار ذو حساسية عالية مقارنة بالفحوصات الأخرى، ويتميز ببساطة الإنجاز وسرعته (Tabidi et al, 2004)، ويميز الخمج بحمة نيووكاسل عن بقية الحمات مثل التهاب القصبات الخمجي (IB)، الكمبورو (IBD) وكذلك الحمات اللقاحية، وبالإضافة إلى حساسية الاختبار العالية في قياس أنواع مختلفة من الأضداد وتكون كمية المصل المستخدمة قليلة جداً، وتسجل القراءة بوساطة جهاز الحاسوب (OIE, 2005) و يعد الاختبار أكثر ملائمة من اختبار اثبات التلازن لاسيما عند الكشف عن أضداد الأمراض الأخرى (Kho et al, 2002)، لكن من الناحية الاقتصادية فهو أكثر كلفة (Dwinger, 2000)، ومن سلبياته أيضاً عدم إمكانية تطبيقه على مصل الدجاج (Desousa et al , 2000) ، ومن خلال المعيار المسجل بهذا الاختبار لا يمكن التفريق بين الاستجابة المناعية للتلقيح والخمج الحقلي بالحمة وتتلخص فكرة الفحص وفقاً لوصف الباحث (Synder et al, 1983) بارتباط المستضد مع الأضداد الموجودة في المصل المراد الكشف عنه، وبوجود أنزيم Peroxidase المرتبط بأضداد متخصصة ضد الأضداد الخاصة بالحمة، وبعد إتمام الارتباط تضاف المادة الحليلة للأنزيم ويدل على حدوث الارتباط بظهور لون مميز بعد إضافة محلول الموقف (Stop Solution)، وتعتمد شدة اللون على كمية الأضداد الموجودة في المصل المراد معايرته، وتسجل النتيجة اعتماداً على شدة امتصاص الضوء بجهاز المطياف مقدرة بما يسمى بقيمة الكثافة الضوئية Optical Density Value التي تدل في حالة عدم وجود تغير باللون إذا كانت القراءة (0) على عدم وجود أضداد يستطيع الاختبار قياسها، أو يحتسب المعيار (Titer) بالاعتماد على القراءة المعددة بجهاز القراءة الخاص بفحص الاليزا (Tabidi et al, 2004).

4.3.2.13.2. اختبار التعادل المصلني

يستخدم الاختبار لتأكيد تشخيص الحمة، وتقريرها عن بقية الحمات لكن من مساوئه تكاليفه الباهضة، والوقت الذي يستغرقه (**Herenda et al, 2000**)، وتتلخص فكرة الاختبار بالإضافة إلى المصل الحاوي على الأضداد إلى العالق الحاوي على الحمة، ويشترط أن يكون المصل معقاً (Sterile)، وقد عُرض إلى (56) لمرة (30) دقيقة للتخلص من مثبتات الحمة غير المتخصصة الحساسة للحرارة (Heat Laible Non Specific Virus-Inhibitory Substance) Alexander,1998). أما الحمة المستخدمة فيجب أن تكون ذات معيار عالي ومطبعة على خلايا الزرع النسيجي بالإضافة إلى خلوها من الملوثات. بعد ذلك يوضع المزيج على الوسط الزرعي النسيجي وتعمل الأضداد المعادلة للحمة على منها من احداث التغيرات المرضية الخلوية وتقارن النتائج مع الاوساط الزرعية النسيجية الحاوية على العالق الحاوي على الحمة مع المصل الخلالي من الأضداد المعادلة له (Herenda et al , 2000)، ومن الممكن استخدام أجنة بيض الدجاج لإجراء الاختبار. وتستخدم طريقتان لإجراء الاختبار .

1. طريقة الفا (α - Neutralization Prucedure)
يستخدم مصل ثابت ، وتكون الحمة هي المتغير (المخفف).

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوکاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطر بالعين

2. طريقة بيتا (β - Neutralization Procedure) تستخدم حمة معروفة ذات معيار عال يقدر بـ (100) وحدة من الجرعة المخمجة لـ (50%) من خلايا الزرع النسيجي، او اجنة بيض الدجاج ، والمصل هو المحفز (Alexander, 1998).

5.3.2.13.2. اختبار الاستشعار المناعي :-Fluorescent Antibody Test

يعد هذا الاختبار اكثراً خصوصية في تشخيص الخمج بالحملة لأعطاءه نتائج في وقت أسرع من طريقة عزل الحمة، ويمكن الحصول على صورة أكثر وضوحاً عن المناعة، بالإضافة إلى إستخدامه لدراسة الأمراضية. ويمكن الكشف عن مكونات الحمة في السايتوبلازم وتمييزها عن أي حمة في مقاطع الزرع النسيجي الرقيقة حيث تعلم الأضداد التي ترتبط مع المستضد باستخدام صبغات مثل الفلورسين وتتحقق باستخدام مجهر التألق المناعي الذي يستخدم فيه الأشعة فوق البنفسجية، وهناك العديد من البحوث توصي باعتماده في المناطق الموبأة لكن مع ذلك فإن هذا الاختبار غير شائع الاستخدام بسبب الكلفة العالية، والجهد (Grimes, 2002).

14.2 المناعة ضد مرض نيوکاسل (Immunity)

1.14.2 المناعة الفعالة Passive Immunity

وهي المناعة التي ليس لجسم الطير أي دور في تكوينها بل يكتسبها جاهزة اما مباشرة من الامهات (Maternal Immunity)، او عن طريق الحقن. وتختلف عن المناعة المنفعة التي يولدها الجسم ضد أي مستضد، كما يختلف مستوى الأضداد المكتسبة من قطيع لآخر، وبين الأفراد لنفس القطيع اعتماداً على حالة الامهات المناعية (Grimes, 2002)، وتكون كمية الأضداد في الأفراد بعمر يوم واحد معادلة لكمية الأضداد في الامهات، ومن ثم تبدأ تدريجياً بالانخفاض بعد (2-3) أيام ويكون الانخفاض بمقدار لوغاریتم واحد ، كل اربعة ايام ونصف وحتى تتلاشى بعمر (3) اسابيع إذا كانت الامهات ملقحة باللقالح الحي واكثر من (42) يوم إذا كانت الامهات ملقحة باللقالح المبطن، او مخمجة بالنيوکاسل (Chandra et al , 2001) ومن فوائد الأضداد الامومية هي انها تعمل على تقليل التفاعلات الجانبية عند إجراء التلقيح بعمر مبكر (Butcher& Miles, 2003).

2.14.2 المناعة الخلوية (Cell Mediated Immunity)

المناعة الخلوية دور مهم في مقاومة الخمج بالنيوکاسل في المراحل المبكرة من حياة الطيور، وت تكون بعد مرور (2-3) ايام من دخول الحمة الى الجسم، وتتناقص خلال الأسبوع الثالث والرابع ودورها معادلة الحمة في الاستجابة المناعية الاولية (Timms & Alexander, 2003)، وباعادة التلقيح يمكن تحفيز الاستجابة المناعية الخلوية (T-Cell)، وتعمل قسم من الخلايا المتفية على تحفيز الاستجابة المناعية للخلايا المتفية نوع (B-Cell) وخلايا البلاعم الكبيرة أو بقية الخلايا المساعدة (Reynolds & Maraqa, 2000) (T helpers).

3.14.2 المناعة الخلطية Humeral Immunity

تعد الاستجابة المناعية المتمثلة بانتاج الاصناف هي افضل دليل لتحديد المقاومة في الدجاج ضد حمة النيوکاسل (Grimes, 2002). وخلايا B-cell هي المسؤولة عن انتاج الاصناف، وت تكون في المراحل الجنينية في الكبد، وكيس المح، ونخاع العظم ومن ثم تنتقل الى جراب فالبريشيا بعد (15) يوماً من مدة الحضن، ومن ثم يكون انتقال هذه الخلايا بصورة تدريجية الى الدم، والطحال، واللوز الاعورية، وغدة هارد، والتلوثة (Butcher & Miles, 2003). وظهور الاصناف في مصل الطيور خلال (6-10) ايام من دخول الحمة ويصل معيار الاصناف الى القمة خلال (4-3) اسابيع (Zee, 2004). ثم تبدأ بالانخفاض التدريجي خلال (4-3) اشهر، ويحفز اللقالح الزيتي انتاج

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوکاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

مستوى عال جدا من الاضداد تكفي لحماية الطير لعدة أشهر (Miller *et al*, 1992). ويعتمد المعيار الحجمي على العترة، وضراوتها، وحالة الطيور المناعية، والعمر، ونوع الطير، والتغذية، وتحفز الاضداد المثبتة للتلازن بواسطة مستضد الالتحام ومستضد التلازن (Chanadra *et al*, 2001) Haemagglutinin- Neuraminidase FusionGlycoprotein تكون المناعة الخلطية المتمثلة بالاضداد متخصصة، وتتمثل بالكلوبويولين المناعي IgM الذي يظهر بعد (4-5) ايام ويختفي بعد اسبوع و IgG الذي يظهر بعد (5) ايام، ويصل انتاجه الى القمة بعد (4-3) اسبوع ثم يقل ببطء، وبعد G هو الاكثر اهمية ويتأخر ظهور هذه الكلوبويولينات في المصل عند التلقيح باللقالح المبطل الزيتى، وطريقة عمل الاضداد هي الالتصاق بالحملة وغلق المستقبل الخاص بها، او منع إنتقالها وتسهيل عملية التهامها بواسطة البلاعم الكبيرة، ولكن ليس لها القابلية على قتل الحملة (Al- Garib *et al*, 2003).

4.14.2 المناعة الموضعية Local Immunity

ان الحماية الاولية قد تلاحظ بوجود مستوى قليل من الاضداد المقاومة في المصل او بغيابها ويعود ذلك الى وجود المناعة الموضعية في الجهاز التنفسى، وتعد غدة هاردر هي المصنع لمعظم الاضداد الموضعية المتخصصة لحماية العين التي تكون حساسة للخمج عن طريق الهواء والرذاذ (Glick, 2000). ويبدا تجمع خلايا البلازمما بعد الفقس ويتطور خلال (4) اسابيع من العمر، وتكون نسبتها عالية في غدة هاردر ومن ثم الغدد الدمعية ويحفز انتاج الكلوبويولين المناعي IgA بنسبة عالية و IgM و IgG بنسبة اقل مع افرازات غدة هاردر، ويكون انتقال الكلوبويولينات من غدة هاردر الى الافرازات المخاطية والدموع عن طريق الدورة الدموية (Russell, 1998). اما نسبة الخلايا المكونة لـ IgA, IgM, IgG في غدة هاردر بعمر اسبوع (1%) على التوالي ويزداد العدد الى (32%, 36%, 12%) بعمر (4) اسابيع (Russell & Ezeifekeka, 1995) ومن ثم بزيادة عدد الخلايا المصنعة لـ IgA في غدة هاردر وبتقدم عمر الطير يصبح IgA هو السائد، وهناك عدة عوامل تؤدي الى قلة الكلوبويولين المناعي IgA مثل الاجهاد وسوء التغذية، الخمج بالامراض التنفسية (AL- Garib *et al* , 2003). وان اعطاء اللقالح الحي عن طريق التقطير بالعين يؤدي الى تكاثر الحمة اللاقاحية في الخلايا المبطنة لقناة غدة هاردر لزيادة عدد الخلايا المكونة للكلوبويولينات المناعية القريبة من الاوعية الدموية ، وهجرة الخلايا الملمفية عبر قناة الغدة الى الانسجة الملمفية في الملتحمة، مما يؤدي الى تثبيط ومعادلة الحمة في موضع دخولها ، ومن ثم حماية الطير من الخمج (Gallego *et al*, 1992).

15.2 التنميـع Immunization

التلقيح هي عملية روتينية تستخدم للسيطرة على المرض، ولكنها لا تمنع تكاثر الحمة وطرحها لذلك لا تعد بديلة للادارة الجيدة والامن الحيوي (Senne *et al*, 2004). وقد استخدمت العترة الحقلية الضاربة بعد تضعيفها بالتمرير على خلايا الزرع النسيجي او الاجنة لقاح حي ضعف، ومن ثم استخدمت اللقالحات المبطنة من العترة الضاربة في بداية الخمسينيات كما استخدم الشب في البداية كمادة مساعدة (Adjuvant)، ثم استخدمت الزيوت (Oil) في تحضير اللقالحات المبطنة الزيتية في اوربا عام 1960 (Droual *et al*, 1990). استفاد الباحثون من فكرة التشابه في التركيبة الاستضدادية لجميع عتر حمة مرض نيوکاسل وان أيه واحدة منها قد توفر حصانة ضد الاخرى عند اعطائهما بشكل لقاح فاستخدمت العترة المتوسطة الضراوة، ثم العترة الضعيفة للوقاية من العترة الحقلية الضاربة، ولا بد من الاشارة الى ان هذه العترة تتباين في نسبة حصانتها ضد

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوكاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

المرض(Allan *et al*, 1978). طورت اللقاحات الثابتة حرارياً، واستخدمت فيها العتر التي لها خاصية الثبات الحراري (Grimes, 2002)، وتتميز هذه اللقاحات بأن لها القابلية على المحافظة على فعاليتها في حالة بقاءها لمدة (12) أسبوعاً بدرجة (28) م° بشكل مجفف، ولا يمكن تعريض هذه اللقاحات إلى ضوء الشمس المباشر أو درجة الحرارة العالية (Llango *et al*, 2005) لقد توصل الباحثون إلى أن استخدام تلقيحة مفردة باللقالح الثابت حرارياً بطريقه التقطير بالعين توفر حماية للافراخ الملقة ولمدة طويلة، وان العتر المستخدمة في تحضيرها غير ضاريه، ولها القابلية على الانتشار بين الطيور الملقة وغير الملقة (Dias *et al*, 2001). هناك عدة عوامل تحدد كفاءة اللقاح، هي درجة التمنيع للقاح، نوع اللقاح والعترة الللاحية (Alexander, 2000).

16.2 انواع اللقاحات Vaccines Types

اللقاحات المستخدمة للوقاية من المرض نوعين : -اللقاحات الحية واللقاحات المبطة ، او المقتولة.

1.16.2 اللقاحات الحية المضعة Live Attenuated Vaccines

تستخدم العتر القليلة الامراضية، والقادرة على توليد استجابة مناعية كافية مثل (Lasota, BI, F) (OIE, 2004) ويمكن اعطاؤها بطائق مختلفة مثل التقطير بالعين او المنخر، والرش ويكون لها تأثير في منع الخسائر التي يسببها المرض(Jacob *et al*, 2001). وتعتبر AG68، لاسوتا اكثراً كفاءة في التمنيع من عترتي F, B1 (Borland &Allan, 1980) وقد يصل معيار الاصداد بعد التلقيح إلى (2⁶-2⁴) (Jacob *et al* , 2001)، وفي حالة التلقيح الاضطراري يعطي اللقاح الحي بالقطير بالعين او المنخر او الرش بعترة B1 او لاسوتا، ف تكون وظيفتها تنافسي تثبيطي ومن ثم تعطي حماية موضعية، ويحفز التلقيح باللقالح الحي كل اشكال الاستجابة المناعية (Grimes, 2002). تعد اللقاحات الحية متوسطة الضراوة Live Mesogenic Vaccine من اللقاحات ذات الكفاءة التمنيعية العالية(Alexander, 2000) وغالباً ما تستخدم في التلقيحة الثانية معززاً للتلقيحة الاولية بالعتر ضعيفة الضراوة(OIE, 2005).

2.16.2 ايجابيات وسلبيات اللقاحات الحية المضعة:

تمتاز هذه اللقاحات بامكانيتها على تحفيز الاستجابة المناعية السريعة، وامكانية جمع كمية كبيرة من المستضد داخل عبوة صغيرة الحجم مما يسهل عملية نقلها، ومن سلبيات هذه الطريقة ان مدة التمنيع تكون قصيرة (Bell, 2001)، لذا يعاد التلقيح على فترات متعددة لضمان مستوى مناعي كافي للحماية من الخمج وتقل كفاءة التلقيح باللقالح الحي في حال وجود الاصداد الامومية، كذلك الضراوة المتبقية التي تسبب مضاعفات ما بعد التلقيح مثل بطء درجة النمو، والامراض التنفسية، وقلة انتاج البيض (Grimes, 2002).

3.16.2 اللقاحات المقتولة (Inactivated Virus Vaccines)

تحضر اللقاحات المبطة بمعالجة سائل الانتويس الحاوي على الحمة بموداد كيمائية مثل الفورمالين او Beta Propiolactone او بطائق فيزيائية مثل التعرض للاشعة او درجة الحرارة (Grimes, 2002). تحضر اللقاحات من عتر Lasota,B1,F,Ulster ثم تمزج مع عوامل مساعدة لزيادة واطالة قدرةها التمنيعية (Waterville, 2003) مثل هيدروكسيد الالمنيوم، والشب، والاملاح الزيتية، وفيتامين E ، والبارافين السائل، ومادة الافردين Avridine وتعتبر اللقاحات المستحلبة الزيتية هي الاكثر كفاءة في احداث استجابة مناعية للعترة الللاحية بعد التلقيح المفرد (Jansen *et al*, 2005) واللقاحات المبطة المحضرة بصورة صحيحة تعطي حماية كافية، وتطور المناعة بعد (3-2) اسابيع بعد الحقن، وتحتفي بعد (6) اشهر حيث يتحرر بشكل بطيء

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوكاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

ولفترات طويلة مؤدياً إلى تحفيز إنتاج الأضداد حتى إذا أعطي بوجود مستوى عالي من المناعة الامومية (Erganis, 2003) ولعدم امكانية تكاثر المستضد في اللقاح الزيتي لذا يحقن بكمية كافية، ويكون مستوى الأضداد في الامهات الملقة باللقاح الزيتي معادل لنفس المستوى في الذرية بعمر يوم، وتستمر لمدة (3) أسابيع، وقد تصل إلى الصفر بعمر (25) يوماً (Rahman et al, 2002) وتعد اللقاحات المبطلة أكثر كفاءة في التمنيع من اللقاحات الحية وتزداد هذه الكفاءة إذا سبقت باللقاح الحي أو إذا تزامن معه (OIE, 2005)، فعند اعطاء اللقاح الزيتي عن طريق الحقن بالعضلة مع اللقاح الحي للعترة B1 عن طريق التقطير بالعين لافراخ بعمر يوم واحد ذات مناعة امومية عالية فإنه يوفر حماية عالية تتراوح بين (70-100%) طول مدة التربية في افراخ اللحم (عكار, 2004).

4.16.2 ايجابيات وسلبيات اللقاحات المقوولة:

تتميز هذه اللقاحات بكونها لا تسبب مضاعفات جانبية ، او تفاعلات بعد التلقيح (Bell, 2001) وسهولة خزنها ولا تتأثر المناعة الاميه اذا تعطي استجابة مناعية اطول وبمستوى كافٍ (Pringle Jansen, et al 2005) . وتعد اللقاحات المبطلة امينة فلا تسبب انتشار المرض (and Heath, R.B., 1990) ولكنها مكلفة عند الانتاج، وتحتاج الى ايدي عاملة كثيرة بالإضافة الى الوقت (Biggs, 1990). ولكنها غير كفؤة اذا استخدمت كتلقيح اولي (Vaneck, 1987). وتنظر الاستجابة المناعية بعد (15-10) يوماً ولا تتحفز المناعة الخلوية ما لم تعطى مع اللقاح الحي، وان مكان الحقن يؤدي الى تكوين افة موضعية (Franchini et al , 1995 , 1995).

17.2 طرائق التلقيح

1.17.2 طريقة التلقيح بواسطة الرش

طريقة واسعة الانتشار سهلة التطبيق، غير مكلفة بالإضافة لكتافتها في توليد استجابة مناعية سريعة ، ومتجانسة خلال ثلاثة أيام بعد التلقيح وبكفاءة (4) اضعاف من طريقة ماء الشرب ويحظر هذا النوع من التلقيح الجهاز المناعي المخاطي، لكون الخمج يحدث بصورة طبيعية عن طريق المسالك التنفسية التي تكون الظهارة فيها ملائمة لنمو الحمة وتمثل هذه الاستجابة بتكوين أجسام مضادة بكمية كبيرة من الكلوبولين المناعي نوع (IgA) في مناطق دخول الحمة، وتکاثرها في القناة التنفسية، والقناة الهضمية ولذلك تستخدم هذه الطريقة في حالات التلقيح الاضطراري باستخدام العتر الفاچية الضعيفة مثل (B1 ، لاسوتا) (Ritchie & Harrison, 2004) . ويعتمد نجاح هذه الطريقة على عدة عوامل منها حجم القطيرات المستخدمة، و تكون عادة بين (30-100) مايكرون في الاعمار الصغيرة بحيث لا تتمكن من النفاذ الى الجزء السفلي من الجهاز التنفسى (اسفل القصبيات الهوائية والاكياس الهوائية)، وتستخدم القطيرات باقل من هذا الحجم في تلقيح الطيور التي سبق تلقيحها، اذ يجب عدم وجود اخماج في القناة التنفسية كالخمج بالمايكوبلازما كاليسبيتكم، العصيات القولونية (Spradbrow, 2002) . ولنوعية العترة المستخدمة في اللقاح دور مهم في كفاءة هذا النوع من التلقيح فالعترة (B1) اذا ما اعطيت بطريقة الرش الخشن لا تؤدي الى علامات تنفسية، لكن الاستجابة المناعية التي تحدث بعد اعطاء عترة لاسوتا تكون افضل من التي تحدثها عترة B1 خاصة عند وجود المناعة الامومية، كما ان لنوعية السائل المستخدم في حل وتخفيف اللقاح دور مهم (Geering et al, 2000) اذ بين الباحث (Morton, 2004) ان الكلور والمواد الكيماوية والاملاح تثبط من فعالية الحمة لذلك يضاف حليب فرز بمقدار (1:1000) للسائل المخفف للمحافظة على حيوية الحمة.

2.17.2 طريقة التلقيح بالقطير بالعين والمنخرین

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوكاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

تعد من طرائق التحسين الفردية، وتعطي استجابة مناعية جيدة ومتجانسة لفترة زمنية اطول من طريقة ماء الشرب والرش، واكبر منها باربعه اضعاف (Oosterwijk *et al*, 2003) اذ تحفز غدة هاردر لتكوين الكلوبيلين المناعي IgA (Alders & Spradbrow, 2001) بالإضافة الى تكوين الـ IgG,IgM (Russall & Ezeifeka, 1995) في الدمومع ومصل الدم (B1) طيفية الضراوة اكفا في المستخدمة عترة (F، Lasota, B1)، ان استخدام العترة اللقاحية (B1) تحفيز الاضداد المناعية نوع IgA, IgG, IgM من بقية العتر عند اعطائهما بعد الفقس في اليوم الاول وذلك لقرتها على التكاثر في الخلايا الظهارية للغدد الدمعية، والمنخرین بصورة اكبر من العتر الاخرى(Baxendale,1998)، ولا توجد علاقة بين درجة الحماية بعد التلقيح بهذه الطريقة ومستوى الاضداد في امصال الدم فقد اشار الباحث (Giambrone, 1985) انه بالرغم من وجود مستويات منخفضة من الاضداد في امصال الطيور التي لقحت الا انها اظهرت حماية ضد الخمج بحمة نيوکاسل الضاري في شكله التنفسى، بسبب المناعة الموضعية المتولدة، وتستمر لمدة زمنية طويلة وتتوفر درجة عالية من الحماية (Oosterwijke *et al*, 2003) وتعد كل من طريقتي التقطير بالعين والتقطير بالمنخرین كفؤة الا ان التقطير بالعين اكفا (Russell,1998). ومن سلبيات هذه الطريقة تحتاج الى الجهد بالإضافة الى كلفتها العالية (Cozen & Runge, 2004) .

3.17.2 طريقة التلقيح بماء الشرب

طريقه سهله، وقليلة الكلفة وشائعة الاستعمال لكنها تعطي استجابة مناعية قليلة ومتباينة مما قلل من كفاءتها (Alexander *et al*, 2004) ولا يفضل اعطاؤها بعمر يوم بعد الفقس بسبب تداخلها مع المناعة الاموية بالإضافة الى قلة استهلاك الماء (Baxendale, 1998) وتظهر الاستجابة المناعية بعد (5-6) ايام بعد التلقيح. غالباً ما تكون التفاعلات الجانبية بعد التلقيح بماء الشرب اقل من بقية الطرائق وتناثر بعدها عوامل منها درجة الحرارة، اذ ان ارتفاع درجات الحرارة يؤدي الى تدفق الطيور ومن ثم يكون استهلاك الماء غير متساوٍ، وبعدها تكون الاستجابة المناعية غير متساوية (Cozens & Runge, 2004). ان ضوء الشمس المباشر والمواد الكيميائية في الماء كالكلور، تعمل على تقليل تركيز الحمة او قتلها (Geering *et al*, 2000). فيفضل اضافة حليب فرز بنسبة (1:400) لحماية الحمة اللقاحية لمدة زمنية اطول ومن ثم الحصول على مستوى مناعي افضل لدى الطيور، وكمية الماء المستخدم حسب عمر الطيور (Alexander,1997).

4.17.2 طريقة التلقيح بالحقن

غالباً ما تستخدم هذه الطريقة باعطاء اللقاحات المقتولة، فيحقن اللقاح بالعضل في منطقة الصدر، والرجل، او تحت الجلد في منطقة الرقبة (Cozen & Runge, 2004) ، وقد استخدمت العتر المتوسطة وهذه اللقاحات تعطى كتلقيح ثانوي بعد التلقيح الاولى بالعتر ضعيفة الضراوة (Geering *et al*, 2000) ومن ايجابياتها انها تعطي مناعة لمدة طويلة بالإضافة الى كون المناعة متجانسة، وتستخدم في تلقيح الامهات، والدجاج البياض بالإضافة الى افراخ اللحم في المناطق المحبوبة، ومن سلبياتها انها تتطلب وقت وجهد، وكلفة مادية بالإضافة الى ما تسببه من افة بسيطة في موضع الحقن مع احتمالية تلوث المحاقن لذلك يفضل الحقن في الرقبة تحت الجلد، لأن الزيت يبقى (70) يوماً او اكثر وهذا يؤثر على كفاءة اللحم بالنسبة للمستهلك .(Stone *et al*,1997)

اجريت التجربة في الحقل الحيواني لكلية الطب البيطري / جامعة الفادسية في قاعة مجهزة بكلفة مستلزمات التجربة للفترة من 18/12/2017 ولغاية 15/1/2018.

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوكاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

تم جلب (75) فرخ دجاج لحم (Ross 308) بعمر يوم واحد غير مجنس من مفاسن الكوثر في الدغاره وقسمت بشكل عشوائي الى خمسة مجاميع متساوية، غذيت على عليةة متوازنة. وكانت المجاميع كالتالي:

- تم طحن بنور الحبة السوداء ومزجها مع العلف الخاص بالمجمومتين الثالثة والرابعة فقط.
2. تم جلب (75) فرخ دجاج لحم بعمر يوم واحد نوع (Ross 308) قسمت على خمسة مجاجيع متساوية كل مجموعة (15) فرخا ولقحت كما في الجدول (1-3) وكما يلي:
- G1 : اعطيت عليةة اساسية لاتحتوي على الحبة السوداء كاضافة علفية ولم تلتحق بلقاح النيوكاسل، بينما لقحت بلقاح الكمبورو الاول والثاني.
- G2 : اعطيت العليةة الاساسية لاتحتوي على مسحوق الحبة السوداء كاضافة علفية ولقحت بلقاح النيوكاسل هي نوع لاسوتا Lasota جرعة واحدة عن طريق ماء الشرب، كما لقحت بلقاح الكمبورو الاول والثاني.
- G3 : اعطيت العليةة الاساسية تحتوي على مسحوق الحبة السوداء كاضافة علفية ولقحت بلقاح النيوكاسل هي نوع لاسوتا Lasota جرعة واحدة عن طريق ماء الشرب، كما لقحت بلقاح الكمبورو الاول والثاني.
- G4 : اعطيت العليةة الاساسية تحتوي على مسحوق الحبة السوداء كاضافة علفية ولقحت بلقاح النيوكاسل هي نوع لاسوتا Lasota جرعة واحدة عن طريق التقطر بالعين، كما لقحت بلقاح الكمبورو الاول والثاني.
- G5 : اعطيت العليةة الاساسية لاتحتوي على مسحوق الحبة السوداء كاضافة علفية ولقحت بلقاح النيوكاسل هي نوع لاسوتا Lasota جرعة واحدة عن طريق التقطر بالعين، كما لقحت بلقاح الكمبورو الاول والثاني.
- واستخدم برنامج تلقيح تضمن اعطاء اللقاح الحي المضعف (عترة لاسوتا) بطريقة التقطر بالعين باستخدام عبوة حاوية على (1000) جرعة . كما لقحت كل المجاجيع بلقاح الكمبورو الاول والثاني عن طريق ماء الشرب (2500) جرعة.

3- تحضير حقل التربية:

تمت عملية تنظيف وغسل مكان التربية بشكل جيد وعمق باستخدام الفورمالين (40%) ، اذ يعتبر تركيزه 100% والبرمنكبات بنسبة (1:2) على التوالي، مع ضمان نسبة رطوبة لا تقل عن 70% ودرجة حرارة $^{\circ}C$ 25 لضمان تخمر غاز الفورمالديهيد ، وتركت لفترة 48 ساعة ثم فتحت وتم تشغيل الساحجبات للتخلاص من بقايا الغاز قبل وصول الافراخ ب24 ساعه. (Allam, 1975).

تم تحضير ماء وسكر مع مجموعة فيتامينات قبل وصول الافراخ ب (24) ساعة وكانت درجة الحرارة ($^{\circ}C$ 33) ، على ان تقل درجة الحرارة ($^{\circ}C$ 2) اسبيوعيا، كما استخدمت مصابيح قوة (60) واط (7 واط / m^2) (Kassab, 2005).

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوكاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

شكل رقم(1-3) تصميم التجربة

المجموعة الاولى: اعطيت علقة اساسية لاتحتوي على الحبة السوداء كاضافة علفية ولم تلقح بلقاح النيوكاسل, بينما لقحت بلقاح الكمبيوتر الاول والثاني.	
المجموعة الثانية: اعطيت العلقة الاساسية لاتحتوي على مسحوق الحبة السوداء كاضافة علفية ولقحت بلقاح النيوكاسل هي نوع Lasota جرعة واحدة عن طريق ماء الشرب, كما لقحت بلقاح الكمبيوتر الاول والثاني.	(75) فرخا بعمر يوم واحد قسمت إلى (5) مجاميع متقاربة وبشكل عشوانى وكمما يلى
المجموعة الثالثة: اعطيت العلقة الاساسية تحتوي على مسحوق الحبة السوداء كاضافة علفية ولقحت بلقاح النيوكاسل هي نوع Lasota جرعة واحدة عن طريق ماء الشرب, كما لقحت بلقاح الكمبيوتر الاول والثاني.	
المجموعة الرابعة: اعطيت العلقة الاساسية تحتوي على مسحوق الحبة السوداء كاضافة علفية ولقحت بلقاح النيوكاسل هي نوع Lasota جرعة واحدة عن طريق التقطير بالعين, كما لقحت بلقاح الكمبيوتر الاول والثاني.	
المجموعة الخامسة: اعطيت العلقة الاساسية لاتحتوي على مسحوق الحبة السوداء كاضافة علفية ولقحت بلقاح النيوكاسل هي نوع Lasota جرعة واحدة عن طريق التقطير بالعين, كما لقحت بلقاح الكمبيوتر الاول والثاني.	

جدول رقم (1-3) يوضح نوع اللقاح وتاريخ التلقيح وطريقة الاعطاء حسب المجاميع

طريق الاعطاء	العمر بالليوم		طريق الاعطاء	Lcاح LasotaND Boehringer Ingelheim-Germany	Lcاح العمر بالليوم	المجموعة
	IBD	للقاح				
ماء الشرب	(24)	(13)	استخدمت عترة IBD(228E)	لم تلقح	G1	
ماء الشرب	استخدمت عترة	استخدمت عترة	ماء الشرب	(20)	(10)	G2
ماء الشرب	IBD	IBD	ماء الشرب			G3
ماء الشرب	(D78)	Intervet-Holland	تقظير بالعين			G4
ماء الشرب	Intervet-Holland		تقظير بالعين			G5

(2-3) سحب عينات الدم

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوكاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

تم سحب دم في اليوم الاول من عمر الافراخ لاجراء اختبار الاليزا لمعرفة مستوى المناعة الامية عن طريق قتل الافراخ، وفي اليوم (30,20) عن طريق القلب وعن طريق الوريد الجناحي لقياس مستوى مناعة النيوكاسل بعد تطبيق البرنامج اللقاحي، وترك الدم وبشكل مائل الى اليوم الثاني في التلاجة ثم استخدم جهاز الطرد المركزي وتم الاحتفاظ بالسیروم بالتجميد باستخدام . Epindrof tube

(3-3) وزن الافراخ

كما تم وزن الافراخ اسبوعيا، وسجلت الاوزان.

جدول رقم (3-2): يوضح التركيب الكيميائي لعقمي البادي والنهائية المستخدمة في التجربة.

المادة العلفية %	العلقة النهائية (21-35) يوما	العلقة الباديء (21-1) يوما	العلقة النهائية (21-35) يوما
حنطة	35.5	27.8	
ذرة صفراء	30	30	
كسبة فول الصويا	21	28	
مركز بروتين حيواني	10	10	
زيت نباتي	3	3	
حجر الكلس	1.2	1	
ملح الطعام	0.3	0.2	
المجموع	100	100	

التركيب الغذائي العام المحسوب

الطاقة المماثلة كيلو سعره / كغم	3125	3075
% البروتين الخام	20	22.7
نسبة الطاقة الى البروتين	155	135

(4-3) حيوية الافراخ: تمت مراقبة حيوية الافراخ وكانت بصحة جيدة ولم تسجل هلاكات خلال فترة التجربة.

(5-3) التلقيح: استخدمت طريقة التقطير بالعين، وماء الشرب.

(1-5-3) التقطير بالعين:

تم حل اللقاح باستخدام محلول حل اللقاح من شركة انترفت/هولندي المنشا وفقا لطريقة (Koopman, 2008).

(2-5-3) التلقيح عن طريق ماء الشرب:

حضر ماء اللقاح الخالي من الكلور واضيف له الحليب الفرز بنسبة 2.5 غم / لتر وفقا لطريقة (Koopman, 2008).

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوکاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطر بالعين



شكل (1-3) : بذور الحبة السوداء



شكل (3-3) شكل نبات الحبة السوداء
النتائج والمناقشة

ان هذه الدراسة تهدف الى استعمال الحبة السوداء كاضافات علفية لرفع الاستجابة المناعية للدواجن لمقاومة الامراض الفتاكة كالنيوکاسل وللتقليل او الحد من استخدام الادوية والمضادات الحيوانية المستعملة والتي لها الكثير من الضرر على صحة الانسان كونها تترك متبقيات في المنتج النهائي للدواجن, وكذلك لتسجيل الزيادة الوزنیه الاسبوعیة.(Gunal *et al.*, 2006)

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوكاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

ان الدراسة الحالية اظهرت تفوقاً معنوياً للمجموعتين الثالثة والرابعة من حيث الاستجابة المناعية والزيادة الوزنية عند إعطاء الحبة السوداء بنسبة 2.5 % بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

جدول رقم (1-4) يوضح نتائج فحص اختبار الاليزا (ELISA):

Groups	Maternal Immunity (1) Day	First Time (20) Days	Second Time (30) Days
G1	13282.55±288.35 Aa	2677.25±24.28 Ba	1187.5±341.79 Bb
G2		3636.75±192.57 BCa	9937±309.59 Cb
G3		4622.5±165.64 Ca	13050.5±97.88 Db
G4		3750±594.06 BCa	11686.25±1019.18 Eb
G5		3350.5±334.01 BCa	8789.75±1037.94 Cb

القيم تمثل المعدلات + الخطاء القياسي.

الحرروف المختلفة بين اي مجموعتين تشير الى وجود اختلافات معنوية تحت مستوى احتمال (0.05).

الحرروف المتشابهة بين اي مجموعتين تشير الى عدم وجود اختلافات معنوية تحت مستوى احتمال (0.05).

الحرروف الكبيرة تدل على القراءة العمودية بين المجاميع، في حين الحرروف الصغيرة تدل على القراءة الافقية.

تشير نتائج الدراسة الى زيادة في مستوى الكلوبولينات المناعية (Immuoglobulines) للمجاميع المعاملة بالعليقية الاساسية مع الحبة السوداء (G3,G4) مقارنة بالمجاميع المعاملة بالعليقية الاساسية بدون الحبة السوداء فضلاً عن مجموعة السيطرة عند مستوى احتمال ($p<0.05$) ، وان السبب في زيادة مستوى الكلوبولينات المناعية في المجاميع المعاملة بالعليقية الاساسية مع الحبة السوداء قد يعود الى ان الحبة السوداء تمتلك تأثيراً في زيادة السايتوكاينات التي تؤثر في خلايا B اذ تعمل هذه الخلايا على زيادة انتاج الاجسام المضادة من خلال زيادة سرعة انقسامها، وكذلك تزداد الفاعلية البلعمية بسبب تأثير الانترلوكينات (Haq,*et al.*, 1995).

اظهرت المجموعتين (G3,G4) المعامل عليهما بالحبة السوداء بعد عشرة ايام من التلقيح الثاني ارتفاعاً كبيراً في مستوى المعيار الحجمي (Titer) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة التي انخفضت المعيار الحجمي للاجسام المناعية الى ادنى مستوى اذ اصبح غير حامياً وبالتالي اظهرتا فرقاً معنوية ($p<0.05$). كذلك الجدول (4-1) يظهر تفوق المجموعتين (G3,G4) في مستوى الاجسام المناعية ($p<0.05$) بالمقارنة مع المجموعتين (G2,G5) على التوالي، كما ان المجموعة (G3) اظهرت اعلى معيار (Titer) عن باقي المجاميع ويعود السبب لربما الى طريقة اعطاء اللقاح عن طريق ماء الشرب اذ تكون الاستجابة المناعية الجسمية اقوى واسرع مما هي عليه عند التلقيح عن طريق التقطير بالعين (G4) اذ اظهرت فرقاً معنوية ($p<0.05$) وهذا ما يتتفق مع ما توصل اليه (Ahmad *et al.* 2004) عندما اعتبر ان مسحوق الحبة يعد معززاً مناعياً اذ بين ان مسحوق الحبة السوداء او زيتها يزيد من مستوى الكلوبولينات المناعية في المصل (IgM,IgG,IgA). Thyroxin Hormone Serum Immunoglobulins للحبة السوداء دوراً في زيادة هرمون

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوکاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

الدرين (Meral, et al., 2003) وهذا بدوره يعزز من افراز هرمون النمو اذ يعتبر هذا الهرمون في الدواجن من المعدلات المناعية Immunomodulator فهو يعمل على زيادة Cell-mediated Blastogenic response of Lymphocytes وزيادة كل من Cytotoxic activity وحجم الطحال (Haddad, & Mashaly, 1991). جدول رقم (2-4) يبين معدل الزيادة الوزنية الأسبوعية:

نهاية الاسبوع الخامس	نهاية الاسبوع الرابع	نهاية الاسبوع الثالث	نهاية الاسبوع الثاني	نهاية الاول	الوزن بغير (1) يوم	المجاميع
1750±17.07 Ae	972.5±8.36 Ad	700±1.5 Ac	375±1.23 Ab	160±0.53 Aa	40±0.68	G1
1800±27.38 Be	1134.28±11.51 Bd	725±258 Ac	380±2.88 Ab	165±0.69 Aa		G2
2100±14.43 Ce	1350±10.24 Cd	796.42±4.32 Bc	425±5.77 Ab	170.33±0.84 Aa		G3
2050±12.92 De	1250.14±12.7 Dd	745.83±6.75 ABC	400±5.32 Ab	165±0.93 Aa		G4
1770±12.9 Ee	1130±4.28 Bd	700±4.18 Ac	375±1.82 Ab	160±0.93 Aa		G5

القيم تمثل المعدلات + الخطاء القياسي.

الحراف المختلفة بين اي مجموعتين تشير الى وجود اختلافات معنوية تحت مستوى احتمال (0.05).
الحراف المتشابهة بين اي مجموعتين تشير الى عدم وجود اختلافات معنوية تحت مستوى احتمال (0.05).
الحراف الكبيرة تدل على القراءة العمودية بين المجاميع, في حين الحراف الصغيرة تدل الى القراءة الافقية.

بيّنت نتائج الاوزان في التجربة الى عدم وجود فروق معنوية حتى نهاية الاسبوع الثاني جدول رقم (2-4) في حين تفوقت المجموعتين (G3,G4) عن باقي المجاميع في نهاية الاسبوع الثالث واظهرت فروقاً معنوية ($p<0.05$) وهذا ناتج عن اعطاء هاتين المجموعتين مسحوق الحبة السوداء بنسبة 2.5% مع العلقة وهذا يتفق مع ما جاء به (Al-Homidan et al., 2002) اذ اثبتوا ان اعطاء الحبة السوداء بنسبة 2.5% ادت الى زيادة في وزن الجسم وكفاءة التحويل الغذائي. واثبت الباحث (Khan et al., 2012) وجماعته ان للحبة السوداء دوراً فاعلاً في زيادة نسبة استهلاك العلف وبالتالي زيادة وزن الجسم وهذا ما يتفق مع نتائج البحث.

تمتلك الحبة السوداء تأثير منشط للنمو Growth promoter ويعزى ذلك الى التأثير المنشط للحبة السوداء في العصارة الصفراء، اذ تؤدي الى زيادة هضم الدهون الموجودة في العلف مما يساعد على زيادة الوزن فضلاً عن أن الزيادة الحاصلة في وزن الجسم يمكن ان تعزى الى تأثير الحبة السوداء في زيادة هرمون الدرقين Thyroxin (Meral,et al.,2003) الذي يعزز من افراز هرمون النمو المفرز من النخامية والذي يؤثر بدوره في ایض البروتینات اذ يؤدي الى زيادة نضوجية الاحماض الامينية وزيادة تركيزها داخل الخلايا وهذا يؤدي الى زيادة عملية تصنيع البروتين (Sturkie, 1986)، كذلك الباحث (Jang et al. 2004) وجماعته اثبتوا ان زيوت الحبة السوداء تزيد من فعالية انزيم التربسين وانزيم الاميليلز المفرز من البنكرياس وبالتالي زيادة هضم البروتين والدهون والسيليلوز. كما ان بنور الحبة السوداء تحتوي على انزيم Lipase

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوكاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

(Duke, 1992) اذ يزيد من هضم الدهون. كما ان بعض الدراسات اكدت ان للحبة السوداء دور في منع تأثير البكتيريا المرضية (Gilani, et al., 2004). يلاحظ في نهاية الاسابيع الثلاث الاخيرة وجود فرق معنوي $p < 0.05$ في الاوزان ولكل الفئران المجموعات الثالثة سجلت اعلى الاوزان تليها المجموعة الرابعة وهذا يدل على التأثير الايجابي لاستخدام الحبة السوداء كاضافات عافية وبنسبة 2.5%. خلال فترة التجربة تمت مراقبة حيوية الافراخ ولم تسجل اية علامات مرضية ولم تسجل هلاكات.

الاستنتاجات والتوصيات

• او لا الاستنتاجات:

1. تلعب الحبة السوداء دوراً مهماً في الاستجابة المناعية وبالتالي فهي معززةً مناعي.
2. ساهمت الحبة السوداء في تحسين الحالة الصحية للطيور.
- 3 . أدى استخدام مسحوق الحبة السوداء ممزوجاً مع العلف إلى زيادة وزنية عالية وهذا يشجع على استخدامها من الناحية الاقتصادية.
- 4 . تعتبر كبديل عن استخدام المضادات الحيوية كمحفزات نمو، وهذا يساعد على عدم وجود بقايا المضادات الحيوية في جسم الطيور بعد الذبح (عند استخدام المضادات الحيوية كمحفزات نمو) وبالتالي تجنب حصول مقاومة دوائية للانسان عند استهلاكه للدواجن ومنتجاتها وبالتالي المحافظة على الصحة العامة.

ثانياً التوصيات:

1. اجراء المزيد من الدراسات على الحبة السوداء والبحث عن مدى استخدامها كبديل عن المضادات الحيوية لمنع نشوء مقاومة للمضادات الحيوانية من قبل البكتيريا المرضية وكمحفز مناعي وكعلاج لبعض الحالات المرضية كما انها تساهم في زيادة الوزن ، ودراسة استخدامها بطرق مختلفة.
- 2 . مخاطبة الجهات المختصة والتعاون مع اصحاب الحقوق والشركات وتشجيعهم على اعطاء الحبة السوداء مع العلبة كمحفز مناعية ومحفزات نمو بدلاً عن المضادات الحيوانية المستخدمة لهذا الغرض.
أجريت هذه التجربة في البيت الحيواني / كلية الطب البيطري لدراسة تأثير استخدام مسحوق بنور مخلوطاً مع العلف على الاستجابة المناعية للقاح Nigella Sativa Seeds الحبة السوداء النيوكاسل بعد اعطاءه مرة عن طريق ماء الشرب والمرة الأخرى عن طريق التقطير بالعين. تم جلب (75) فرخ دجاج لحم (Ross 308) بعمر يوم واحد غير مجنس من مفنس الكوثر في الدغاره وقسمت بشكل عشوائي إلى خمسة مجاميع متساوية ، غذيت على علبة متوازنة. وكانت المجاميع كالتالي: (G1) مجموعة السيطرة بدون أي اضافة ولم تلقح بلقاح النيوكاسل، (G2) لقحت بلقاح النيوكاسل عن طريق ماء الشرب وبدون معاملة العلف بالحبة السوداء، (G3) اعطيت مسحوق الحبة السوداء بجرعة 2.5% مع العلف ولقحت بلقاح نيوکاسل عن طريق ماء الشرب،

دراسة تأثير استخدام الحبة السوداء كمحفز مناعي عند التلقيح بلقاح النيوکاسل بطريقتي ماء الشرب والتقطير بالعين

(G4) اعطيت مسحوق الحبة السوداء بجرعة 2.5% مع العلف ولقت بلقاح النيوکاسل عن طريق التقطير بالعين، (G5) لقت بلقاح النيوکاسل عن طريق التقطير بالعين وبدون معاملة العلف بالحبة السوداء ولمدة خمسة اسابيع.

جمعت عينات الدم بعمر(1,20,30) وفصل السيرم لتحديد مستوى المناعة الامية عن طريق فحص الاليزا، ثم المناعة الناتجة عن التلقيح. اظهرت النتائج وجود فروق معنوية في مستوى المعيار الحجمي للمناعة بين المجاميع المختلفة ($p<0.05$) وكانت اعلى النتائج للمجموعتين (G3,G4) اللتين مزجت الحبة السوداء بنسبة 2.5% مع العلف.

وزنت الافراخ في نهاية كل اسبوع وسجلت الاوزان وتفوقت مجموعتي (G3,G4) على كل المجاميع عند مستوى احتمال $p<0.05$.
تمت مراقبة مجاميع التجربة ولم تسجل اي هلاكات وكانت حيوية الافراخ جيدة.