جامعة الموصل

كلية الطب البيطري

دراسة مقارنة لنوعين من الزيوت على بعض الجوانب المناعية لفروج اللحم المحصن بفايروس مرض النيوكاسل

عبيده عبدالملك عبدالمحسن حامد الكلو

رسالة ماجستير

الطب البيطري / الأحياء المجهرية البيطرية

بأشراف

الأستاذ الدكتور

عمار محمود احمد العالم

ربيع الأول /1446هـ

أيلول / 2024م

الخلاصة

يعد فايروس مرض النيوكاسل أحد أنواع فايروسات الحامض النووي الرايبي أُحادي الخيط RNA virus غير المجزئ والذي يسبب الإصابة بمرض النيوكاسل في الطيور، تمثل الإصابة بمرض نيوكاسل أحد أهم التحديات اليومية لصناعة الدواجن إذ منذ اكتشافه عام 1926 سبب العديد من الاندلاعات المرضية في حقول الدواجن المترافقة مع الخسائر الاقتصادية الكبيرة، وتعتمد مكافحة المرض بشكل أساس على تحسين مستوى الحماية لدى الطيور ضد مرض النيوكاسل عن طريق تحصين الطيور مع تبني ظروف إدارة أفضل، أُستخدمت الكثير من الإضافات العلفية في علائق الدواجن لرفع مستوى المناعة عند أفراخ دجاج اللحم وجعلها أكثر مقاومة للأمراض والإجهاد، هدفت هذه الدراسة إلى معرفة تأثير إضافة زيت الأوميجا 3 وزيت بذور الكتان إلى علائق أفراخ دجاج اللحم الملقح بفايروس النيوكاسل وكذلك للمقارنة بين الزيتين وتأثيرهما في الدجاج.

قسمت دراستنا إلى تجربتين إذ أجريت التجربة الأولى (الأولية) على 48 فرخَ دجاجٍ لاحم وأجريت التجربة الثانية (الرئيسة) على 240 فرخ دجاج لاحم (نوع Ross 308)، استعمل زيت بذور الكتان وزيت الأوميجا 3 بتركيز 1% واستعمل ايضاً نوعين من اللقاحات الأول لقاح مبطل من عترة (ND Clone 30) من شركة (MSD) الهولندية وأعْطِيَ بطريقة الحقن تحت الجلد بعمر يوم واحد وبجرعة (0,1 مل) لكل فرخ باستعمال مسدس إعطاء ميكانيكي واللقاح الثاني كان لقاحاً مضعفاً من عترة (Nobilis® ND Clone 30) من شركة (MSD) الهولندية وأُعْطِيَ بعمر (7 و14 و21) يوم بجرعة 2500 جرعة /10 لتر في ماء الشرب، قسمت افراخ التجربة الأولى (الأولية) على أربع مجاميع بواقع 12 فرخاً لكل مجموعة وعوملت بمعاملات مختلفة.

أما التجربة الثانية (الرئيسة) قسمت أفراخها على ثماني مجاميع ولكل مجموعة 30 فرخاً وكانت المجاميع كما يأتي:

المجموعة الأولى G1: تم تحصينها بلقاحين مرض النيوكاسل المبطل والمضعف وتم إعطائها ماء وعلف فقط.

المجموعة الثانية G2: تم تحصينها بلقاحين مرض النيوكاسل المبطل والمضعف مع إضافة زيت بذور الكتان بنسبة 1% إلى العلف.

المجموعة الثالثة G3: تم تحصينها بلقاحين مرض النيوكاسل المبطل والمضعف مع إضافة زيت السمك (omega 3) بنسبة 1% إلى العلف.

المجموعة الرابعة G4: تم تحصينها بلقاحين مرض النيوكاسل المبطل والمضعف مع إضافة زيت بذور الكتان وزيت السمك (omega 3) بنسبة 1% إلى العلف.

المجموعة الخامسة G5: تم إضافة زيت السمك (omega 3) بنسبة 1% إلى العلف وبدون تحصين.

المجموعة السادسة G6: تم إضافة زيت بذور الكتان بنسبة 1% إلى العلف وبدون تحصين.

المجموعة السابعة G7: مجموعة السيطرة تم إعطائها علفاً وتركت بدون إضافات وبدون تحصين.

المجموعة الثامنة G8: تم إضافة زيت بذور الكتان وزيت (omega 3) بنسبة 1% إلى العلف وبدون تحصين.

عوملت هذه المجاميع بمعاملات مختلفة لدراسة تأثير الإضافات والمكملات الغذائية في معايير الأجسام المضادة وقياس أعداد كريات الدم البيض الكلي والتفاضلي وقياس مستوى مؤشر البلعمة والانفجار التنفسي والمعلمات المناعية (الانترفيرون كاما والانترلوكين 6و4)، جمعت عينات الدم لقياس معايير الأجسام المضادة في الأيام (1و7و14و21و28و35)، بينما جمعت عينات الدم لقياس أعداد كريات الدم البيض ومؤشر البلعمة والانفجار التنفسي والمعلمات المناعية في الأيام (1و3و10و17و24و31) من التجربة.

تم إجراء تعداد كريات الدم البيض الكلي والتفريقي باستعمال جهاز تحليل الدم في حين تم استعمال اختبارات مؤشر البلعمة والانفجار التنفسي للكشف عن وظيفتها مع استعمال فحص المقايسة المناعية المرتبطة بالأنزيم (ELISA) لغرض قياس مستويات المعلمات المناعية (الانترلوكين والانترفيرون).

بينت نتائج التجربة الأولى (الاولية) عدم حدوث أعراض جانبية للحيوانات عند استعمال الزيوت (زيت بذور الكتان وزيت الاوميجا 3) وبنسبة 1% مع زيادة في معايير الأجسام المضادة الخاصة بمرض النيوكاسل بشكل معنوي عند مستوى احتمالية ($p\leq0.05$) عند استعمال زيت بذور الكتان وزيت الأوميجا 3 في علائق دجاج اللحم.

بينما أظهرت نتائج التجربة الثانية (الرئيسة) ارتفاعاً معنوياً في معايير الأجسام المضادة في اليومين الثامن والعشرين والخامس والثلاثين وفي المجاميع الملقحة بلقاح النيوكاسل مقارنة

مع باقي أيام التجربة الأخرى وسجلت المجموعة الثانية المعاملة بزيت بذور الكتان مع إعطاء لقاح النيوكاسل أعلى معيار للأجسام المضادة في اليوم الخامس والثلاثين إذ كانت قيمتها (13249.92 ± 13.11) بينما لم تسجل المجاميع غير الملقحة أي ارتفاعٍ معنويٍ بمعايير الأجسام المضادة وفي جميع أيام التجربة.

أظهرت النتائج أن هناك زيادة في عدد كريات الدم البيض الكلي والتفاضلي في جميع المجموعات المعاملة ولكنها بقيت ضمن معدلاتها الطبيعية في افراخ التجربة، وانخفضت نسب العدلات، في حين زادت الخلايا الليمفاوية، أظهرت نسب الخلايا وحيدة الخلية، الحامضية والقاعدية استجابة قليلة ووصلت إلى (0.7 و4.1 و0.2%) على التوالي. يكشف مؤشر البلعمة والانفجار التنفسي عن زيادة كبيرة في جميع المجموعات المعالجة مقارنة مع السيطرة إذ بلغت أعلى قيمة لمؤشر البلعمة في المجموعة الأولى وفي اليوم الرابع والعشرين من التجربة إذ بلغت (80.01 ± 0.64)، بينما بلغت أعلى نسبة للانفجار التنفسي في اليوم الرابع والعشرين وفي المجموعة الثانية والتي كانت قيمتها (78.01 ± 0.67).

وبينت نتائج قياس مستوى الانترفيرون كَاما ارتفاعاً معنوياً في الأيام السابع عشر والرابع والعشرين والحادي والثلاثين من التجربة وفي أغلب مجاميع التجربة وبلغت أعلى قيمة لمستوى الانترفيرون كَاما في المجموعة الثامنة المعاملة بزيت بذور الكتان مع زيت الأوميجا 3 وبدون تلقيح في اليوم السابع عشر إذ كانت قيمتها (33.18 ± 0.05) بينما لم يسجل اليومان الثالث والعاشر ارتفاعاً ملحوظاً في مستوى الانترفيرون كَاما.

وعند مقارنة مستويات الاستجابة للانترلوكين 6 في مختلف مجاميع التجربة تبين وجود ارتفاعٍ معنويٍ في الأيام السابع عشر والرابع والعشرين والحادي والثلاثين من التجربة وفي اغلب مجاميع التجربة، سجلت أعلى قيمة للانترلوكين 6 في اليوم الرابع والعشرين من التجربة وفي المجموعة الرابعة المعاملة بزيت بذور الكتان مع زين الأوميجا 3 مع إعطاء اللقاح إذ بلغت قيمتها (27.47 ± 0.05) ولم يُلاحَظْ ارتفاع في اليومين الثالث والعاشر من التجربة.

أظهرت نتائج قياس مستوى الانترلوكين 4 ارتفاعاً معنوياً في الأيام السابع عشر والرابع والعشرين والحادي والثلاثين من التجربة وفي أغلب مجاميع التجربة وكانت أعلى قيمة لمستوى الانترلوكين 4 في اليوم الرابع والعشرين وفي المجموعة الرابعة المعاملة بزيت بذور الكتان مع زيت الأوميجا 3 مع التلقيح إذ بلغت قيمتها (33.98 ± 0.04) بينما لم يسجل ارتفاعاً معنوياً في اليومين الثالث والعاشر من التجربة.

نستنتج من هذه الدراسة بان إضافة الزيوت المعززة (زيت بذورالكتان وزيت الأوميجا 3) إلى علائق الدجاج اللاحم لايحدث أي اثار جانبية في صـــحة الدجاج بينما تســـاعد في تحفيز المناعة ورفع مستويات الأجسام المضادة في الدجاج، كما أن استعمال الزيوت يمكن أن يحسن إجمالي عدد خلايا الدم البيض وكذلك يزيد من قدرتها على نشاط البلعمة والقتل، فضلاً عن ذلك فإن لكلا الزيتين (زيوت بذور الكتان والأوميجا 3) تأثيرات إضـــافية في اســـتجابة الانترفيرون كاما والإنترلوكين 6و4 ويمكنهما تعديل مناعة الدجاج اللاحم لتوفير حالة مناعية جيدة بعد اللقاح بالنيوكاسل مما قد يوفر حماية أكبر ضد العدوى.

University of Mosul

College of Veterinary Medicine

Comparative Study of two types of oils on some immunological Aspects in broiler vaccinated against Newcastle Disease Virus.

Obaida Abdulmalik Abdulmohsen Hamid Al-kalo

M. Sc. Thesis

Veterinary Medicine / Veterinary Microbiology

Supervised By

Professor

Dr. Ammar Mahmood Ahmed Al-Aalim

1446 A.H **2024 A.D**

Abstract

Newcastle virus is one of the types of non-segmented single-stranded RNA viruses that causes Newcastle disease. Newcastle disease represents one of the most important daily challenges. For poultry industry, since its discovery in 1926, it has caused many disease outbreaks in poultry fields accompanied by large economic losses. Control of the disease depends mainly on improving the level of protection among birds against Newcastle disease by vaccinating birds while adopting better management conditions. This study aimed to find out the effect of adding omega-3 oil and flaxseed oil to the diets of broiler vaccinated with Newcastle disease virus, as well as to compare the two oils and their effect on chicks' immunity.

Our study was divided into two experiments. The first (primary) experiment was conducted on 48 broiler chickens, and the second (main) experiment was conducted on 240 broiler chickens (Ross 308), flaxseed oil and omega-3 oil were used at a concentration of 1%, Two types of vaccine also used, the first is inactivated vaccine from (MSD) company and given subcutaneously at the age of one day at a dose of (0.1 ml) for each chick using a mechanical administration gun, The second vaccine was an attenuated vaccine Nobilis® ND Clone 30 strain from (MSD) company and was given at the age of (7, 14 and 21) days at a dose of 2500 doses/10 liters in drinking water, The chicks of the first (primary) experiment were divided into four groups, each group had 12 chicks with different treatments.

As for as the second experiment (main) its chicks were divided into eight groups, each group has 30 chicks, the groups were as follow:

Group one (G1): vaccinated with the two vaccine (inactivated and attenuated) and gives water and feeds only.

Group two (G2): vaccinated with the two vaccine (inactivated and attenuated) and add flaxseed oil by percentage 1% to the feeds.

Group three (G3): vaccinated with the two vaccine (inactivated and attenuated) and add fish oil (omega 3) by percentage 1% to the feeds.

Group four (G4): vaccinated with the two vaccine (inactivated and attenuated) and add flaxseed oil and fish oil (omega 3) by percentage 1% to the feeds.

Group five (G5): added fish oil (omega 3) by percentage 1% to the feeds without vaccinated.

Group six (G6): added flaxseed oil by percentage 1% to the feeds without vaccinated.

Group seven (G7): (control group) gives feeds and water only and without vaccinated.

Group eight (G8): added flaxseed oil and fish oil (omega 3) by percentage 1% to the feeds without vaccinated.

these groups were treated with various transactions to study the effect of additives and supplements on the titer of antibodies, measuring the numbers of total white and differential blood cells and detecting the level of the phagocytic index, respiratory burst, immune parameters, including interferon- γ and interleukins-6,4. The blood samples were collected to detecting the standards of antibodies in days (1, 7, 14, 21, 28 and 35), while blood samples were collected to detecting the numbers of white blood cells, the phagocytic index, the respiratory burst, and immune parameters in days (1, 3, 10, 17, 24 and 31) of the experiment.

Total and differential white blood cell counts were performed using a blood analyzer, while phagocytic index and respiratory burst tests were

used to detect their functions, along with the use of ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) for measuring the levels of immune parameters (interleukin-6&4 and interferon- γ).

The results of the first (primary) experiment showed that there were no side effects in birds when using oils (flaxseed oil and omega-3 oil) at a rate of 1%, with a significant increase in antibody titer for Newcastle disease at the probability level ($p \leq 0.05$) when using flaxseed oil and Omega 3 oil in broiler diets.

While the results of the second (main) experiment showed a significant increase in antibody titers on the days 28 and 35 in the groups vaccinated with the Newcastle disease vaccine compared to the other days of the experiment, and the second group treated with flaxseed oil with the Newcastle disease vaccine given the highest antibody titer on the 35 day its value was (13249.92 ± 13.11), while the unvaccinated groups did not record any significant increase in antibodies titers at another days of the experiment.

The results showed there is an increase in the number of total and differential white blood cells in all experimental groups, but they remained in their normal domains in broiler chicken, and the rates of neutrophils decreased, while the lymphocytes increased, the lineage of monocytes, eosinophils and basophils, showed a few response and reached (0.7 and 4.1 and 0.2%), respectively, the phagocytic index and respiratory burst reveals a significant increase in all treated groups compared to control, as it reached the highest value of the phagocytic index in the first group and on the day 24 of the experiment, as it reached (80,01 ± 0.64) While the highest percentage of the respiratory burst on the day 24 in the second group was (78.01 ± 0.67).

The results of measuring the level of interferon-γ showed a significant increase on the days 17, 24 and 31 of the experiment and in most of the

experimental groups, the highest value of the level of interferon- γ was reached in the eighth group treated with flaxseed oil and omega-3 oil without vaccination on the day 17 where its value was (33.18 ± 0.05), while the third and tenth days did not record a significant increase in the level of interferon- γ.

When comparing the levels of response to interleukin-6 in the various groups of the experiment, it was found that there was a significant increase in days 17, 24, and 31 of the experiment in most of the experimental groups, the highest value of interleukin-6 was recorded in day 24 of the experiment and in the fourth group that treated with flaxseed oil with omega-3oil with the administration of the vaccine where its value reached (27.47 ± 0.05), no increase was detected on the third and tenth days of the experiment.

The results of measuring the level of interleukin-4 showed a significant increase in days 17, 24 and 31 of the experiment and in most of the experimental groups, the highest value for the level of interleukin-4 was in day 24 and in the fourth group treated with flaxseed oil with omega-3 oil with vaccination (33.98 ± 0.04), while no significant increase was recorded on the third and tenth days of the experiment.

We conclude from this study that adding enhanced oils (flaxseed oil and omega-3 oil) to broiler diets does not cause any side effects on the health of the chickens, while it helps to stimulate the immunity and raise antibody levels in the chickens, the use of oils can also improve the total number of white blood cells also increases its ability to phagocytic killing activity. In addition, both oils (flaxseed and omega-3 oils) have additional effects on the response of interferon- γ and interleukin-6 and 4, and they can modify the immunity of broiler to provide a good immune status after vaccination with Newcastle disease vaccine, which may provide greater protection against infection.