نشریه علوم درمانگاهی دامپزشکی ایران؛ ۱۴۰۰؛ ۱۵(۱): ۳-۱۶.

ارزیابی پاسخ فاز حاد متعاقب درمان کمپلکس تنفسی تجربی جوجه‌های گوشتی با داروهای گیاهی به‌صورت انفرادی یا ترکیب با آنتی‌بیوتیک

سبحان عمادی جمالی[۱]، حبیب‌الله دادرس[۲]، سعید نظیفی[۲*]، محمد عباس‌نیا[۱]

۱. دانشجوی دکترای بهداشت و بیماری‌های پرندگان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.
۲. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.

دریافت: ۸ تیرماه ۹۹ **پذیرش:** ۹ شهریورماه ۹۹

چکیده

بیماری‌های تنفسی طیور یکی از علل اصلی مرگ و میر طیور و عامل ضررهای اقتصادی به صنعت طیور هستند. آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای کاهش‌دهنده‌ی علائم و جراحات تنفسی برای کنترل بیماری‌های تنفسی به‌صورت وسیعی تجویز می‌گردند. پروتئین‌های فاز حاد، گروهی از پروتئین‌های خون هستند که در کبد سنتز می‌شوند و در التهاب‌ها و عفونت‌های مختلف در سرم خون افزایش می‌یابند. در این مطالعه تجربی، تأثیر داروهای مختلف به نام‌های تجاری منتوفین، ارومکس و بیوبرون (آزمون ۱) به تنهایی و یا همراه با آنتی‌بیوتیک (آزمون ۲) در درمان کمپلکس تنفسی ویروسی جوجه‌های گوشتی ناشی از H9N2 AIV+IBV بر برخی پروتئین‌های فاز حاد و شاخص‌های مرتبط با التهاب بررسی شد. میزان هاپتوگلوبین، سرم آمیلوئید A، اووترانسفرین، اسید سیالیک تام، اسید سیالیک متصل به لیپید، اسید سیالیک متصل به پروتئین و آدنوزین دآمیناز در گروه‌های تحت چالش نسبت به گروه کنترل منفی افزایش معنی‌داری داشت. درمان با تمام داروهای مورد استفاده در گروه‌های آزمون اول در مقایسه با گروه کنترل مثبت تأثیر معنی‌داری در میزان پروتئین‌های فاز حاد نداشت. در آزمون دوم استفاده از انروفلوکساسین به‌صورت ترکیبی با داروهای آزمون اول، تأثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین‌های فاز حاد نداشتند. نتیجه‌گیری کلی این که، به نظر می‌رسد این داروهای گیاهی به تنهایی یا در ترکیب با انروفلوکساسین تأثیری بر روند بیماری-زائی بیماری مرتبط با تولید پروتئین‌های فاز حاد ندارد.

واژه‌های کلیدی: کمپلکس تنفسی، برونشیت، آنفلوانزا، پروتئین‌های فاز حاد.

مقدمه

پروتئین‌های فاز حاد، گروهی از پروتئین‌های خون هستند که به‌عنوان بخشی از پاسخ فاز حاد، در کبد سنتز می‌شوند. این پروتئین‌ها به‌عنوان پاسخ غیر اختصاصی سیستمیک ایمنی ذاتی، در مقابل اختلال موضعی یا سیستمیک ناشی از ضربه، عفونت، استرس، جراحی و نئوپلازی، برای برقراری مجدد وضعیت طبیعی و بهبودی عمل می‌کنند. سرم آمیلوئید A و اووترانسفرین در خلال فرآیند التهاب یا استرس تولید می‌شوند (۱۶ و ۴۱). در محل عفونت یا آسیب بافتی، سیتوکین‌های پیش التهابی و پپتیدهای میانجی، توسط سلول‌هایی که نقش کلیدی در پاسخ ایمنی و التهابی ایفا می‌کنند، ترشح می‌شوند (۵۳)؛ اگرچه کبد به‌عنوان اصلی‌ترین منبع پروتئین‌های فاز حاد در نظر گرفته می‌شوند، اما ممکن است در اندام‌ها و یا بافت‌های دیگری نیز تولید شوند (۴۹). پروتئین‌های فاز حاد شاخص فیزیولوژیک ارزیابی سلامت و آسایش حیوانات است و امکان تشخیص و پیش‌آگهی درمان را فراهم می‌سازد (۱۱) که استفاده هدفمند از دارو و درمان را امکان‌پذیر می‌کند (۲۸). در پژوهش‌های مختلف روی جوجه‌های گوشتی، تأثیر محرومیت غذایی، دمای محیط و

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: nazifi@shirazu.ac.ir

تراکم گله بر سطح پروتئین‌های فاز حاد نشان داده شده است (۳۷ و ۳۸). در سال‌های اخیر، شیوع بیماری‌های تنفسی در گله‌های تجاری گوشتی، ضرر اقتصادی فراوانی به صنعت طیور ایران وارد کرده است. ویروس آنفلونزای طیور H9N2 و H5N1، ویروس برونشیت عفونی و نیوکاسل به فراوانی از گله‌های گوشتی جداسازی شده است (۲۶). این عوامل بیماری‌زا، به تنهایی یا همراه با دیگر عوامل، ایجاد بیماری می‌کنند و تأثیر زیان‌بار اقتصادی قابل توجهی دارند (۴۶). درگیری جوجه‌های گوشتی با ویروس برونشیت عفونی، سبب افزایش معنی‌دار سرم آمیلوئید A، هاپتوگلوبین و اسید سیالیک می‌گردد (۴). در جوجه‌های آلوده به ویروس بورس عفونی، میزان سرم آمیلوئید آ به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (۳۹). داروهای گیاهی در سال‌های اخیر به‌عنوان درمان مکمل برای بیماری‌های مختلفی در کانون توجه هستند (۳). اسانس‌های گیاهی ترکیبی از هیدروکربن‌های اشباع و غیر اشباع، آلدئیدها، استر، اتر، کتون‌ها و اکسید فنول و ترپن هستند که بوی خاصی ایجاد می‌کنند. داروهای گیاهی از ترکیب اسانس‌ها یا روغن‌های فرار گیاهان مختلفی از قبیل اکالیپتوس، نعنا، آویشن، لیمو، رزماری و ... ساخته می‌شوند. اکالیپتول یک اکسید ترپونوئید است که در بسیاری از داروهای گیاهی یافت می‌شود. عصاره اکالیپتوس دارای ۷۰-۸۵ درصد سینئول است (۶). علاوه بر خاصیت شل‌کنندگی عضلات توسط ۱,۸ سینئول، در شرایط داخل بدن با کاهش تولید متابولیت‌های آراشیدونیک اسید، اثرات ضد التهابی نیز دارد (۲۷). اثرات ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضد تکثیری عصاره اکالیپتوس نیز گزارش شده است (۱). در روغن نعناع حدود ۴۴ درصد منتول وجود دارد که دارای خواص دیگری از قبیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد باکتری، قارچ و ویروس نیز است (۸). در بررسی‌های مختلفی، کارایی بالینی فرآورده‌های گیاهی ارزیابی شده است و مصرف این فرآوده‌ها در صنعت طیور همچنان ادامه دارد (۲). تاکنون مطالعه خاصی درباره تأثیر کمپلکس تنفسی جوجه گوشتی و همچنین درمان با فرآورده‌های گیاهی رایج در صنعت طیور بر میزان پروتئین‌های فاز حاد صورت نگرفته است. در این بررسی داروهای منتوفین، آرومکس و بیوبرون به‌صورت تنها و یا همراه با انروفلوکساسین ۱۰ درصد (شرکت کیمیافام) برای درمان جوجه‌های گوشتی مبتلا به کمپلکس تنفسی استفاده شد. ترکیب منتوفین شامل ۱۰ درصد روغن اکالیپتوس، ۱۰ درصد منتول و ۳۳ درصد مایع حلّال و ۴۷ درصد ساپونین است. ترکیب آرومکس شامل روغن اکالیپتوس، نعنا و آویشن است. بیوبرون حاوی روغن‌های و عصاره‌های گیاهی معطر (اکالیپتوس، رزماری، بابونه، کاج و پوست لیمو) و ویتامین C است. هدف از تحقیق حاضر، ارزیابی پروتئین‌های فاز حاد مثبت (هاپتوگلوبین، سرم آمیلوئید آ و اووترانسفرین)، پروتئین فاز حاد منفی (آلبومین)، برخی فاکتورهای مرتبط با التهاب (آدنوزین دآمیناز، اسید سیالیک تام، اسید سیالیک متصل به لیپید ، اسید سیالیک متصل به پروتئین و پروتئین تام سرم) متعاقب چالش همزمان ویروس‌های آنفلونزای کم حدت (H9N2) و برونشیت عفونی و تجویز داروهای مختلف بر میزان آن‌ها می‌باشد.

مواد و روش کار

تعداد ۲۸۰ قطعه جوجه یک‌روزه گوشتی سویه‌ی هوبارد خریداری و به دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز منتقل گردید. اصول بهداشتی و کلیه تمهیدات لازم به‌منظور جلوگیری از آلودگی جوجه‌ها به هر نوع عامل بیماری‌زا در زمان انتقال و در طول دوره پرورش به‌کار گرفته شد. در خلال دوران پرورش از هیچ واکسن زنده یا کشته‌ای استفاده نشد. برای تغذیه در طی این دوره از دان پلت با فرمول مخصوص ماکیان گوشتی استفاده شد. جوجه‌ها به ۸ گروه آزمایشی (هر گروه ۳۵ قطعه) تقسیم شدند (جدول ۱) و در شرایط کاملاً یکسان پرورش یافتند. هر تیمار دارای یک تکرار و در هر تیمار، ۳۵ قطعه جوجه قرار گرفت.

جدول ۱- گروه‌های چالش‌یافته در آزمون اول و دوم

	گروه	چالش[1]	درمان[2]
شاهد	شاهد منفی	عدم چالش	-
	شاهد مثبت	AIV H9N2+IBV	-
آزمون ۱	T1	AIV H9N2+IBV	منتوفین
	T2	AIV H9N2+IBV	آرومکس
	T3	AIV H9N2+IBV	بیوبرون
آزمون ۲	G1	AIV H9N2+IBV	منتوفین+ انروفلوکساسین
	G2	AIV H9N2+IBV	آرومکس+ انروفلوکساسین
	G3	AIV H9N2+IBV	بیوبرون+ انروفلوکساسین

۱- IBV (ویروس برونشیت عفونی جدایه (IRFIBV32 (793/B) و AIV H9N2 (ویروس آنفلونزا (H9N2) A/Chicken/Iran/SH-110/99).
۲- درمان طبق توصیه شرکت سازنده و به مدت ۵ روز ادامه یافت.

ویروس‌های برونشیت عفونی جدایه IRFIBV32 و آنفلونزا H9N2 (A/Chicken/Iran/772/1998)، جداشده از مزارع استان فارس در این مطالعه برای چالش استفاده شدند. مایع آلانتوییک حاوی هر ویروس به صورت مجزا پس از آماده‌سازی، در تخم مرغ جنین‌دار ۹ روزه تلقیح گردید. دو سی‌سی مایع آلانتوئیک حاوی هر ویروس، با یک سی‌سی آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین- استرپتومایسین (۳۰۰۰ واحد پنی‌سیلین+ ۳۰۰۰ میلی‌گرم استرپتومایسین در یک میلی‌لیتر) مخلوط گردید و ۰/۲ میلی‌لیتر از مخلوط حاصل به حفره آلانتوئیک تخم مرغ تلقیح و پس از نگه‌داری در دمای ۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت، آن‌ها را از دستگاه انکوباتور خارج کرده و پس از سرد کردن، مایع آلانتوئیک آن‌ها برداشت شد، سپس با استفاده از روش رید و مانش (Reed and Muench method) ، EID50/ml ویروس محاسبه گردید (۴۵). ویروس برونشیت عفونی جدایه IRFIBV32 و آنفلونزا H9N2 در سن ۲۵ روزگی به جوجه‌های گروه آزمایش به‌جز گروه شاهد منفی به روش قطره بینی و قطره چشمی (۵۰ میکرولیتر چشم و ۵۰ میکرولیتر بینی) تلقیح شد، به‌طوری‌که هر پرنده ۱۰۰ میکرولیتر مایع آلانتوئیک حاوی ویروس برونشیت و آنفلونزا به ترتیب حاوی $10^{5,3}$ و $10^{7,1}$ EID50/ml دریافت کرد. به‌محض مشاهده نشانی‌های بالینی بیماری در روز بعد از چالش، درمان گروه‌ها اعمال شد. طول دوره درمان دارویی ۵ روز بود. دوزاژ داروها و آنتی‌بیوتیک بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده به‌صورت زیر است: انروفلوکساسین ۱۰ درصد (کیمیا، ایران) با دوز یک سی‌سی در یک لیتر آب، منتوفین (EWABO ، آلمان) با دوز یک سی‌سی در ۵ لیتر آب، آرومکس (Xvet، آلمان) با دوز ۲ سی‌سی در ۱۰ لیتر آب، بیوبرون (زاگرس فارمد، ایران) با دوز ۱ سی‌سی در ۲ لیتر آب آشامیدنی. در سنین ۲۵، ۲۶، ۲۸، ۳۱ و ۳۴ روزگی نمونه‌های خون از هر گروه (پنج جوجه در هر مرحله) از طریق ورید وداج اخذ گردید. نمونه‌های خون به‌صورت تقریباً افقی، برای ۸ ساعت در دمای اتاق و به‌صورت عمودی برای یک شب در یخچال نگه‌داری گردیدند. سرم‌های حاصل، با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شدند، سپس سرم‌های شفاف و عاری از هرگونه گلبول قرمز در درون میکروتیوب تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری گردیدند.

اندازه‌گیری پروتئین‌های فاز حاد شامل هاپتوگلوبین، سرم آمیلوئید A و اووترانسفرین به روش الیزای ساندویچی و کیت‌های شرکت کریستال دی بیوتک ساخت شانگهای چین (Shanghai Crystal Day Biotech, Shanghai, China)، با دستگاه الیزا ریدر کانورجنت ساخت کشور آلمان (ELISA reader, Convergent, Germany) اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری آدنوزین دآمیناز به روش آنزیمی- کالری متری و با استفاده از کیت (Diazyme Laboratories, Gregg Court, California, USA) صورت گرفت. اندازه‌گیری پروتئین تام سرم به روش بیوره و آلبومین سرم به روش بروموکرزول گرین با استفاده از

کیت‌های تجاری ساخت شرکت پارس آزمون کشور ایران و دستگاه اتوآنالایزر بیوشیمی آلفا کلاسیک ساخت کشور ایران انجام شد (۱۰). اسید سیالیک تام و اسید سیالیک متصل به لیپید به روش اسید تیوباربیتوریک اندازه‌گیری شدند (۳۰). اسید سیالیک متصل به پروتئین از تفاوت اسید سیالیک تام و اسید سیالیک متصل به لیپید به‌دست آمد.

نتایج به‌دست آمده با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ و به روش تست توکی (Tukey test) با درجه‌ی اطمینان ۹۵ درصد تجزیه و تحلیل آماری شد.

نتایج

نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری هاپتوگلوبین، سرم آمیلوئید A و اووترانسفرین در جداول ۲ تا ۴ ارائه شده است. میزان هاپتوگلوبین سرم در گروه‌های تحت چالش با ویروس برونشیت عفونی و آنفلوانزای H9N2 در روزهای ۳، ۶ و ۹ بعد از چالش در مقایسه با گروه کنترل به‌صورت قابل توجهی افزایش یافت. سطح هاپتوگلوبین سرم در گروه‌های تحت درمان با داروهای گیاهی یا همراه با آنتی-بیوتیک، تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل مثبت نداشت.

جدول ۲- میزان هاپتوگلوبولین g/L (میانگین ± انحراف استاندارد) در روزهای آزمایش در گروه‌های تحت چالش

گروه‌ها	روزهای پس از عفونت				
	۰	۱	۳	۶	۹
کنترل منفی	۰/۰۸±۰/۰۰ a	۰/۰۷±۰/۰۰ a	۰/۰۸±۰/۰۰ a	۰/۰۸±۰/۰۰ a	۰/۰۸±۰/۰۰ a
کنترل مثبت	۰/۰۸±۰/۰۰ a	۰/۰۹±۰/۰۳ a	۰/۱۱±۰/۰۰ a	۰/۱۲±۰/۰۰ b	۰/۱۲±۰/۰۰ b
منتوفین	۰/۰۷±۰/۰۰ a	۰/۰۹±۰/۰۳ a	۰/۱۱±۰/۰۰ a	۰/۱۳±۰/۰۰ b	۰/۱۳±۰/۰۰ b
ارومکس.	۰/۰۸±۰/۰۰ a	۰/۰۸±۰/۰۳ a	۰/۱۱±۰/۰۰ a	۰/۱۳±۰/۰۰ b	۰/۱۳±۰/۰۰ b
بیوبرون.	۰/۰۷±۰/۰۰ a	۰/۰۹±۰/۰۳ a	۰/۱۱±۰/۰۰ a	۰/۱۳±۰/۰۰ a	۰/۱۳±۰/۰۰ b
منتوفین+ انروفلوکساسین	۰/۰۷±۰/۰۰ a	۰/۰۸±۰/۰۳ a	۰/۱۱±۰/۰۰ a	۰/۱۲±۰/۰۰ a	۰/۱۲±۰/۰۰ b
ارومکس+ انروفلوکساسین	۰/۰۸±۰/۰۰ a	۰/۰۹±۰/۰۳ a	۰/۱۱±۰/۰۰ a	۰/۱۲±۰/۰۰ a	۰/۱۲±۰/۰۱ b
بیوبرون+ انروفلوکساسین	۰/۰۷±۰/۰۰ a	۰/۰۸±۰/۰۳ a	۰/۱۱±۰/۰۰ a	۰/۱۲±۰/۰۰ a	۰/۱۲±۰/۰۱ b

حروف لاتین متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح P< ۰/۰۵ می‌باشد.

جدول ۳- میزان اووترانسفرین µg/ml (میانگین ± انحراف استاندارد) در روزهای آزمایش در گروه‌های تحت چالش

گروه‌ها	روزهای پس از عفونت				
	۰	۱	۳	۶	۹
کنترل منفی	۱/۲۳±۰/۱۸ a	۱/۲۴±۰/۱۷ a	۱/۲۵±۰/۱۸ a	۱/۲۵±۰/۲۲ a	۱/۲۲±۰/۲۱ a
کنترل مثبت	۱/۲۴±۰/۱۹ a	۲/۴۷±۰/۳۷ b	۴/۸۴±۰/۶۶ b	۴/۸۵±۰/۶۵ b	۴/۸۹±۰/۶۴ b
منتوفین	۱/۲۳±۰/۲۰ a	۲/۴۴±۰/۳۹ b	۴/۸۵±۰/۶۷ b	۴/۹۷±۰/۷۵ b	۵/۰۰±۰/۷۶ b
ارومکس.	۱/۲۳±۰/۱۸ a	۲/۴۷±۰/۳۸ b	۴/۸۶±۰/۷۶ b	۵/۰۰±۰/۷۴ b	۵/۰۴±۰/۷۳ b
بیوبرون.	۱/۲۳±۰/۲۰ a	۲/۴۴±۰/۴۴ b	۴/۸۹±۰/۷۳ b	۵/۰۳±۰/۷۴ b	۵/۰۸±۰/۷۳ b
منتوفین+ انروفلوکساسین	۱/۲۳±۰/۲۰ a	۲/۴۶±۰/۳۸ b	۴/۷۸±۰/۶۳ b	۴/۹۰±۰/۶۴ b	۴/۹۱±۰/۶۴ b
ارومکس+ انروفلوکساسین	۱/۲۳±۰/۱۹ a	۲/۴۵±۰/۴۳ b	۴/۸۴±۰/۷۵ b	۴/۹۱±۰/۶۳ b	۴/۹۲±۰/۶۳ b
بیوبرون+ انروفلوکساسین.	۱/۲۳±۰/۲۱ a	۲/۴۶±۰/۴۰ b	۴/۸۲±۰/۷۸ b	۴/۹۴±۰/۶۲ b	۴/۹۴±۰/۶۴ b

حروف لاتین متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح P< ۰/۰۵ است.

جدول ۴- میزان سرم آمیلوئید A µg/ml (میانگین ± انحراف استاندارد) در روزهای آزمایش در گروه‌های تحت چالش

گروه‌ها	روزهای پس از عفونت				
	۰	۱	۳	۶	۹
کنترل منفی	۱/۴۵±۰/۰۰ a	۱/۴۵±۰/۰۰ a	۱/۴۵±۰/۰۰ a	۱/۴۵±۰/۰۰ a	۱/۴۴±۰/۰۱ a
کنترل مثبت	۱/۴۵±۰/۰۰ a	۲/۸۷±۰/۶۰ b	۳/۸۷±۰/۵۳ b	۳/۸۷±۰/۵۷ b	۳/۸۷±۰/۶۰ b
منتوفین	۱/۴۴±۰/۰۰ a	۲/۸۷±۰/۶۰ b	۳/۸۷±۰/۵۳ b	۳/۸۷±۰/۵۴ b	۳/۸۷±۰/۵۴ b
ارومکس.	۱/۴۴±۰/۰۰ a	۲/۸۷±۰/۵۹ b	۳/۸۷±۰/۵۳ b	۳/۸۷±۰/۵۲ b	۳/۸۷±۰/۵۳ b
بیوبرون.	۱/۴۵±۰/۰۰ a	۲/۸۷±۰/۶۰ b	۳/۸۷±۰/۵۳ b	۳/۸۷±۰/۵۳ b	۳/۸۷±۰/۵۰ b
منتوفین+ انروفلوکساسین	۱/۴۴±۰/۰۰ a	۲/۸۷±۰/۶۱ b	۳/۸۷±۰/۵۲ b	۳/۸۷±۰/۵۷ b	۳/۸۷±۰/۶۰ b
ارومکس+ انروفلوکساسین	۱/۴۵±۰/۰۰ a	۲/۸۷±۰/۶۱ b	۳/۸۷±۰/۵۲ b	۳/۸۷±۰/۵۷ b	۳/۸۷±۰/۵۹ b
بیوبرون+ انروفلوکساسین.	۱/۴۴±۰/۰۰ a	۲/۸۷±۰/۶۰ b	۳/۸۷±۰/۵۳ b	۳/۸۷±۰/۵۸ b	۳/۸۷±۰/۵۹ b

حروف لاتین متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح P< ۰/۰۵ است.

میزان سرم آمیلوئیدA در گروه‌های چالش‌یافته در مقایسه با گروه کنترل در روز ۱ بعد از چالش افزایش یافت و در گروه‌های تحت درمان با منتوفین، بیوبرون و آرومکس در روز ۶ بعد چالش به‌میزان حداکثر خود رسید که از نظر آماری با سایر گروه‌های تحت درمان معنی‌دار نبود. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تحت درمان و گروه کنترل مثبت در روزهای بعد از چالش دیده نشد.

میزان اووترانسفرین در گروه‌های تحت چالش در روز بعد از چالش افزایش و در روز ۳ به حداکثر میزان خود رسید و تا روز ۹ نیز در سطح بالایی حفظ شد. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تحت درمان و گروه کنترل مثبت مشاهده نشد.

مقادیر آدنوزین دآمیناز، پروتئین تام سرم و آلبومین در جداول ۵ تا ۷ ارائه شده است. همان‌گونه که دیده می‌شود، در روز بعد از چالش میزان آدنوزین دآمیناز سرم در گروه-های تحت چالش، افزایش یافته و در گروه‌های تحت درمان با منتوفین، بیوبرون و آرومکس (به‌صورت انفرادی یا همراه با آنتی‌بیوتیک)، در روز ۶ به حداکثر میزان خود رسیده است. میزان آدنوزین دآمیناز در روزهای بعد از چالش در تمام گروه‌های آلوده شده نسبت به گروه کنترل منفی به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است. تفاوت میزان آدنوزین دآمیناز بین گروه‌های تحت درمان و گروه کنترل مثبت در روزهای بعد از چالش معنی‌دار نبود.

جدول ۵- میزان پروتئین تام g/dL (میانگین ± انحراف استاندارد) در روزهای آزمایش در گروه‌های تحت چالش

گروه‌ها	روزهای پس از عفونت				
	۰	۱	۳	۶	۹
کنترل منفی	۵/۶۳±۰/۰۹ a	۵/۶۵±۰/۰۹ a	۵/۶۳±۰/۱۰ a	۵/۶۴±۰/۱۰ a	۵/۶۲±۰/۰۷ a
کنترل مثبت	۵/۶۴±۰/۱۰ a	۶/۱۹±۰/۱۳ b	۶/۳۲±۰/۱۲ b	۶/۲۹±۰/۱۶ b	۶/۳۰±۰/۱۷ b
منتوفین	۵/۶۳±۰/۰۹ a	۶/۲۰±۰/۱۲ b	۶/۳۲±۰/۱۲ b	۶/۳۶±۰/۱۳ b	۶/۳۹±۰/۱۵ b
ارومکس.	۵/۶۳±۰/۱۰ a	۶/۱۹±۰/۱۳ b	۶/۳۲±۰/۱۲ b	۶/۳۵±۰/۱۶ b	۶/۳۸±۰/۱۴ b
بیوبرون.	۵/۶۲±۰/۰۸ a	۶/۱۸±۰/۱۲ b	۶/۳۱±۰/۱۴ b	۶/۳۷±۰/۱۶ b	۶/۳۹±۰/۱۵ b
منتوفین+ انروفلوکساسین	۵/۶۴±۰/۰۹ a	۶/۱۸±۰/۱۲ b	۶/۳۰±۰/۱۱ b	۶/۱۲±۰/۳۳ b	۶/۳۲±۰/۱۶ b
ارومکس+ انروفلوکساسین	۵/۶۳±۰/۰۸ a	۶/۱۶±۰/۱۳ b	۶/۳۱±۰/۱۲ b	۶/۳۲±۰/۱۷ b	۶/۳۲±۰/۱۵ b
بیوبرون+ انروفلوکساسین	۵/۶۲±۰/۰۸ a	۶/۱۷±۰/۱۳ b	۶/۳۲±۰/۱۱ b	۶/۳۳±۰/۱۷ b	۶/۳۰±۰/۱۴ b

حروف لاتین متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح P< ۰/۰۵ است.

جدول ۶- میزان آلبومین g/L (میانگین± انحراف استاندارد) در روزهای آزمایش در گروه‌های تحت چالش

گروه‌ها	روزهای پس از عفونت				
	۰	۱	۳	۶	۹
کنترل منفی	۴۵/۷۷±۱/۴۴ a	۴۵/۷۸±۱/۴۷ a	۴۵/۸۳±۱/۶۵ a	۴۵/۹۶±۱/۹۷ a	۴۶/۱۰±۱/۳۲ a
کنترل مثبت	۴۵/۹۲±۱/۲۶ a	۴۰/۶۳±۲/۲۷ b	۳۸/۷۹±۱/۸۴b	۳۹/۲۰±۱/۶۴ b	۳۸/۸۸±۲/۰۲b
منتوفین	۴۵/۹۱±۱/۷۷ a	۴۰/۸۶±۲/۳۴ b	۳۸/۹۳±۱/۶۷ b	۳۸/۴۸±۱/۸۵b	۳۸/۱۴±۲/۵۵b
ارومکس	۴۵/۹۱±۱/۴۸ a	۴۰/۳۱±۲/۳۸b	۳۸/۶۴±۲/۰۶ b	۳۸/۳۲±۱/۵۸b	۳۸/۴۰±۲/۳۶ b
بیوبرون	۴۵/۳۴±۱/۸۱ a	۴۰/۹۷±۲/۴۱b	۳۸/۷۹±۱/۸۴b	۳۸/۵۶±۱/۶۰ b	۳۸/۲۶±۲/۳۹ b
منتوفین+ انروفلوکساسین	۴۵/۹۱±۱/۵۹ a	۴۰/۵۶±۲/۳۸ b	۳۸/۷۹±۱/۸۴b	۳۹/۰۴±۱/۷۲b	۳۸/۶۸±۱/۸۲ b
ارومکس+ انروفلوکساسین	۴۶/۰۶±۱/۱۸ a	۴۰/۷۷±۲/۲۹b	۳۹/۰۷±۲/۱۸b	۳۹/۱۲±۱/۷۷b	۳۸/۵۲±۱/۹۳b
بیوبرون+ انروفلوکساسین	۴۵/۴۹±۱/۶۱ a	۴۰/۴۹±۲/۳۱b	۳۸/۵۰±۲/۳۴b	۳۹/۱۴±۱/۷۸b	۳۸/۶۶±۱/۸۸ b

حروف لاتین متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح P< ۰/۰۵ است.

جدول ۷- میزان آدنوزین دآمیناز U/L (میانگین ± انحراف استاندارد) در روزهای آزمایش در گروه‌های تحت چالش

گروه‌ها	روزهای پس از عفونت				
	۰	۱	۳	۶	۹
کنترل منفی	۹/۸۷±۱/۸۴ a	۹/۸۴±۱/۷۵ a	۹/۶۶±۱/۹۰ a	۹/۵۵±۱/۸۷ a	۱۰/۴۳±۱/۶۴ a
کنترل مثبت	۱۰/۲۳±۱/۵۲ a	۳۱/۹۳±۶/۵۸ b	۳۸/۴۴±۴/۳۰ b	۳۸/۳۱±۴/۲۹ b	۳۸/۳۰±۴/۴۹ b
منتوفین	۱۰/۲۳±۱/۵۷ a	۳۲/۲۵±۶/۹۹ b	۳۸/۱۹±۴/۹۱ b	۴۰/۲۳±۴/۷۸ b	۴۰/۳۵±۴/۷۶ b
ارومکس	۱۰/۴۱±۱/۵۵ a	۳۲/۰۵±۶/۷۵ b	۳۸/۲۳±۳/۵۲ b	۴۰/۳۸±۴/۷۹ b	۴۰/۴۹±۴/۷۸ b
بیوبرون	۱۰/۳۰±۲/۰۶ a	۳۴/۳۳±۵/۹۴ b	۳۹/۳۵±۴/۴۱ b	۴۰/۴۲±۴/۷۷ b	۴۰/۴۷±۴/۷۶ b
منتوفین+ انروفلوکساسین	۱۰/۴۲±۱/۹۹ a	۳۴/۳۸±۵/۲۱ b	۳۸/۵۹±۵/۷۰ b	۳۸/۳۰±۴/۲۶ b	۳۸/۳۴±۴/۴۹ b
ارومکس+ انروفلوکساسین	۱۰/۴۰±۲/۱۴ a	۳۴/۰۴±۷/۱۰ b	۳۷/۴۴±۴/۳۹ b	۳۸/۴۰±۴/۲۸ b	۳۸/۳۸±۴/۴۹ b
بیوبرون+ انروفلوکساسین	۱۰/۱۰±۲/۲۵ a	۳۴/۶۷±۵/۳۵ b	۳۸/۲۳±۴/۸۸ b	۳۸/۴۷±۴/۳۰ b	۳۸/۴۴±۴/۴۸ b

حروف لاتین متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح P< ۰/۰۵ است.

میزان پروتئین تام سرم در روزهای بعد از چالش در گروه‌های آلوده شده نسبت به گروه کنترل منفی به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. در کلیه روزهای بعد از چالش، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تحت درمان و کنترل مثبت مشاهده نشد.

میزان آلبومین سرم در روزهای ۱، ۳، ۶ و ۹ بعد از چالش در کلیه گروه‌های تحت درمان و کنترل مثبت به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل منفی بود. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تحت درمان و گروه کنترل مثبت مشاهده نشد.

همان‌گونه که در جداول ۸ تا ۱۰ مشاهده می‌شود، میزان اسید سیالیک تام، اسید سیالیک متصل به لیپید و اسید سیالیک متصل به پرتئین در گروه‌های چالش‌یافته در روز بعد از چالش به‌طور معنی‌داری افزایش یافته و در روز ۹ به میزان حداکثر خود رسیده است. این مقادیر در گروه‌های تحت درمان در مقایسه با گروه کنترل مثبت در روزهای پس از چالش، تفاوت معنی‌داری نداشت.

جدول ۸- میزان سیالیک اسید تام µm/L (میانگین ± انحراف استاندارد) در روزهای آزمایش در گروه‌های تحت چالش

گروه‌ها	روزهای پس از عفونت				
	۰	۱	۳	۶	۹
کنترل منفی	۰/۳۷±۰/۰۰۳[a]	۰/۳۸±۰/۰۰۵[a]	۰/۳۸±۰/۰۰۷[a]	۰/۳۷±۰/۰۰۶[a]	۰/۳۷±۰/۰۰۵[a]
کنترل مثبت	۰/۳۷±۰/۰۰۵[a]	۱/۰۰±۰/۰۱[b]	۱/۱۶±۰/۰۷[b]	۱/۱۷±۰/۰۷[b]	۱/۱۷±۰/۰۶[b]
منتوفین	۰/۳۷±۰/۰۰۵[a]	۱/۰۱±۰/۰۱[b]	۱/۱۵±۰/۰۷[b]	۱/۱۸±۰/۰۶[b]	۱/۱۹±۰/۰۶[b]
ارومکس	۰/۳۷±۰/۰۰۶[a]	۱/۰۰±۰/۱۰[b]	۱/۱۵±۰/۰۸[b]	۱/۱۹±۰/۰۵[b]	۱/۱۹±۰/۰۶[b]
بیوبرون	۰/۳۸±۰/۰۰۴[a]	۱/۰۰±۰/۱۰[b]	۱/۱۵±۰/۰۷[b]	۱/۱۹±۰/۰۵[b]	۱/۲۰±۰/۰۶[b]
منتوفین+ انروفلوکساسین	۰/۳۷±۰/۰۰۵[a]	۱/۰۱±۰/۱۰[b]	۱/۱۵±۰/۰۷[b]	۱/۱۷±۰/۰۷[b]	۱/۱۷±۰/۰۷[b]
ارومکس+ انروفلوکساسین	۰/۳۷±۰/۰۰۵[a]	۱/۰۰±۰/۱۰[b]	۱/۱۴±۰/۰۸[b]	۱/۱۷±۰/۰۷[b]	۱/۱۸±۰/۰۷[b]
بیوبرون+ انروفلوکساسین	۰/۳۷±۰/۰۰۳[a]	۱/۰۱±۰/۱۰[b]	۱/۱۶±۰/۰۶[b]	۱/۱۷±۰/۰۷[b]	۱/۱۸±۰/۰۷[b]

حروف لاتین متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح P< ۰/۰۵ است.

جدول ۹- میزان سیالیک اسید متصل به لیپید µm/L (میانگین ± انحراف استاندارد) در روزهای آزمایش در گروه‌های تحت چالش

گروه‌ها	روزهای پس از عفونت				
	۰	۱	۳	۶	۹
کنترل منفی	۰/۲۲±۰/۰[a]	۰/۲۲±۰/۰[a]	۰/۲۳±۰/۰[a]	۰/۲۴±۰/۰[a]	۰/۲۴±۰/۰[a]
کنترل مثبت	۰/۲۳±۰/۰[a]	۰/۷۱±۰/۰۸[b]	۰/۸۶±۰/۰۵[b]	۰/۸۷±۰/۰۴[b]	۰/۸۷±۰/۰۴[b]
منتوفین	۰/۲۳±۰/۰[a]	۰/۷۲±۰/۰۸[b]	۰/۸۶±۰/۰۵[b]	۰/۸۹±۰/۰۴[b]	۰/۸۹±۰/۰۴[b]
ارومکس	۰/۲۳±۰/۰[a]	۰/۷۲±۰/۰۸[b]	۰/۸۶±۰/۰۶[b]	۰/۸۹±۰/۰۴[b]	۰/۹۰±۰/۰۴[b]
بیوبرون	۰/۲۳±۰/۰[a]	۰/۷۲±۰/۰۸[b]	۰/۸۶±۰/۰۵[b]	۰/۸۹±۰/۰۴[b]	۰/۹۰±۰/۰۴[b]
منتوفین+ انروفلوکساسین	۰/۲۳±۰/۰[a]	۰/۷۲±۰/۰۸[b]	۰/۸۶±۰/۰۴[b]	۰/۸۸±۰/۰۴[b]	۰/۸۸±۰/۰۴[b]
ارومکس+ انروفلوکساسین	۰/۲۳±۰/۰[a]	۰/۷۲±۰/۰۸[b]	۰/۸۶±۰/۰۴[b]	۰/۸۷±۰/۰۴[b]	۰/۸۹±۰/۰۴[b]
بیوبرون+ انروفلوکساسین.	۰/۲۳±۰/۰[a]	۰/۷۱±۰/۰۷[b]	۰/۸۶±۰/۰۵[b]	۰/۸۸±۰/۰۴[b]	۰/۸۸±۰/۰۴[b]

حروف لاتین متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح P< ۰/۰۵ است.

جدول ۱۰- میزان سیالیک اسید متصل به پروتئین µm/L (میانگین ± انحراف استاندارد) در روزهای آزمایش در گروه‌های تحت چالش

گروه‌ها	روزهای پس از عفونت				
	۰	۱	۳	۶	۹
کنترل منفی	۰/۱۵±۰/۰ [a]	۰/۱۵±۰/۰۰ [a]	۰/۱۵±۰/۰۰ [a]	۰/۱۵±۰/۰ [a]	۰/۱۵±۰/۰ [a]
کنترل مثبت	۰/۱۴±۰/۰ [a]	۰/۲۹±۰/۰۷ [b]	۰/۲۹±۰/۰۳ [b]	۰/۲۹±۰/۰۴ [b]	۰/۳۰±۰/۰۳ [b]
منتوفین	۰/۱۴±۰/۰ [a]	۰/۲۹±۰/۰۷ [b]	۰/۲۹±۰/۰۳ [b]	۰/۲۹±۰/۰۴ [b]	۰/۳۰±۰/۰۴ [b]
ارومکس	۰/۱۴±۰/۰ [a]	۰/۲۹±۰/۰۷ [b]	۰/۲۹±۰/۰۳ [b]	۰/۲۹±۰/۰۴ [b]	۰/۲۹±۰/۰۴ [b]
بیوبرون	۰/۱۵±۰/۰ [a]	۰/۲۹±۰/۰۷ [b]	۰/۲۹±۰/۰۴ [b]	۰/۳۰±۰/۰۳ [b]	۰/۲۹±۰/۰۴ [b]
منتوفین+ انروفلوکساسین	۰/۱۵±۰/۰ [a]	۰/۲۹±۰/۰۷ [b]	۰/۳۰±۰/۰۳ [b]	۰/۳۰±۰/۰۳ [b]	۰/۳۰±۰/۰۳ [b]
ارومکس+ انروفلوکساسین	۰/۱۵±۰/۰ [a]	۰/۳۰±۰/۰۷ [b]	۰/۳۰±۰/۰۴ [b]	۰/۳۰±۰/۰۴ [b]	۰/۳۰±۰/۰۳ [b]
بیوبرون+ انروفلوکساسین	۰/۱۵±۰/۰ [a]	۰/۳۰±۰/۰۷ [b]	۰/۳۰±۰/۰۳ [b]	۰/۳۰±۰/۰۳ [b]	۰/۳۰±۰/۰۴[b]

حروف لاتین متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح P< ۰/۰۵ است.

بحث

میزان هاپتوگلوبین سرم در گروه‌های تحت چالش با ویروس برونشیت عفونی و آنفلوانزای H9N2 در روزهای ۳، ۶ و ۹ بعد از چالش در مقایسه با گروه کنترل به‌صورت قابل توجهی افزایش یافت که نشان دهنده آن است که درگیری هم‌زمان با این دو ویروس میزان هاپتوگلوبین سرم را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. سطح هاپتوگلوبین سرم در گروه‌های تحت درمان با داروهای گیاهی یا همراه با آنتی‌بیوتیک، تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل مثبت نداشت.

لیپوپروتئین با چگالی بالا و یکی از پروتئین‌های اصلی فاز حاد است که متعاقب التهاب، استرس فیزیکی و یا زایمان افزایش می‌یابد (۳۶). در بسیاری از گونه‌های حیوانی در موارد بروز التهاب، سرم آمیلوئید A و هاپتوگلوبین به‌طور قابل توجهی تغییر می‌کنند (۴۳). در جوجه، سرم آمیلوئید A به‌عنوان یکی از پروتئین‌های فاز حاد قابل اعتماد در تشخیص جراحات التهابی است (۱۲و ۱۳). این عامل، میزان آسیب‌های اکسیداتیو را محدود می‌کند و سلول‌های ایمنی را در بافت التهابی به‌کار می‌گیرد. علاوه بر این، سبب توقف تب شده و فرآیندهای پیش‌التهابی را تعدیل می‌کند (۱۶، ۳۵و ۴۱).

Firouzi و همکاران (۲۱) نشان دادند که در جوجه‌های چالش داده شده با ویروس نیوکاسل ولوژنیک در مقایسه با جوجه‌های سالم، میزان سرم آمیلوئید A به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. در بررسی Habibi و همکاران (۲۳)، میزان هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A در جوجه‌های بومی واکسینه‌شده و چالش‌یافته با سویه وحشی ویروس نیوکاسل به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل منفی بود. در بررسی Asasi و همکاران (۴)، جوجه‌های چالش‌یافته با ویروس برونشیت عفونی، میزان هاپتوگلوبین و سرم آمیلوئید A به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود. نتایج مشابه از سوی Nazifi و همکاران (۴۰) و Barbe و همکاران (۵) گزارش شده است.

میزان اووترانسفرین در گروه‌های تحت چالش در روز بعد از چالش، افزایش و در روز ۳ به حداکثر میزان خود رسید و تا روز ۹ نیز در سطح بالا حفظ شد. تفاوت میزان سرم آمیلوئید A، در گروه‌های چالش‌یافته در مقایسه با گروه کنترل در روز ۱ بعد از چالش افزایش یافت و در گروه‌های تحت درمان با منتوفین، بیوبرون و آرومکس در روز ۶ بعد چالش به میزان حداکثر خود رسید که از نظر آماری با سایر گروه‌های تحت درمان معنی‌دار نبود. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تحت درمان و گروه کنترل مثبت در روزهای بعد از چالش دیده نشد.

هاپتوگلوبین یکی از پروتئین‌های فاز حاد است که سطح سرمی آن در عفونت‌ها، التهاب و آسیب بافتی افزایش می‌یابد (۳۶). سرم آمیلوئید آ، یک آپولیپوپروتئین از معنی‌داری بین گروه‌های تحت درمان و گروه کنترل مثبت مشاهده نشد. ترانسفرین در پرندگان به‌صورت سروترانسفرین با منشأ کبدی و اووترانسفرین از اویداکت یافت می‌شود (۵۲). اووترانسفرین، به‌عنوان پروتئین فاز حاد عمل می‌کند و در التهاب‌های باکتریایی، ویروسی و شیمیایی افزایش می‌یابد. در صورت تداوم التهاب در بدن، سطح اووترانسفرین بالا باقی می‌ماند (۴۴). افزایش سطح اووترانسفرین در طول عفونت احتمالا به نقش آنتی اکسیدانی علیه آسیب اکسیداتیو بافتی، تعدیل‌کننده ایمنی (۵۴)، بازدارنده رشد عوامل عفونی (۲۲) و احیا-کننده هموستاز بدن (۴۴) نسبت داده می‌شود؛ علاوه بر این در فرآیند رگ‌زایی در مکانیسم‌های متعاقب التهاب در بهبود زخم مؤثر است (۱۷). این فاکتور به‌عنوان یکی از شاخص‌های تشخیص التهاب و عفونت در جوجه مطرح است (۴۴).

در روز بعد از چالش، میزان آدنوزین دآمیناز سرم در گروه‌های چالش‌یافته افزایش یافته و در روز ۶ بعد از چالش در گروه‌های تحت درمان با منتوفین، بیوبرون و آرومکس به حداکثر میزان خود رسید. میزان آدنوزین دآمیناز در روزهای بعد از چالش در تمام گروه‌های آلوده‌شده نسبت به گروه کنترل منفی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تحت درمان و گروه کنترل مثبت در روزهای بعد از چالش مشاهده نشد. آدنوزین دآمیناز نقش کلیدی در متابولیسم پیورین ایفا و دآمیناسیون آدنوزین به اینوزین و داکسی آدنوزین به داکسی اینوزین را کاتالیز می‌کند که در نهایت سطح

خارج سلولی آدنوزین به‌عنوان یک ملکول ضد التهابی را تنظیم می‌کند. آدنوزین در طول آسیب بافتی و التهاب حاد به‌عنوان سنسور سیستم ایمنی عمل می‌کند، بنابراین آدنوزین دآمیناز با تنظیم آدنوزین در پاسخ التهابی مشارکت می‌کند (۱۵)؛ علاوه بر این در ایمنی سلولی مشارکت می‌کند و به‌عنوان شاخص مهمی در تعیین شدت التهاب و پاسخ ایمنی به عفونت در نظر گرفته می‌شود (۹). در بررسی Boiago و همکاران (۹) میزان فعالیت آدنوزین دآمیناز در سرم و کبد مرغان تخم‌گذار آلوده به *سالمونلا گالیناروم* به ترتیب به‌طور معنی‌داری کاهش و افزایش یافت. میزان فعالیت آدنوزین دآمینار در مسمومیت با آفلاتوکسین در بلدرچین (۱۵) کاهش و در جوجه (۳۴) افزایش می‌یابد.

چالش‌یافته با ویروس نیوکاسل ولوژنیک در مقایسه پرندگان سالم، به‌طور معنی‌داری متفاوت بود. در بررسی Asasi و همکاران (۴) میزان اسید سیالیک در جوجه‌های چالش‌یافته با ویروس برونشیت عفونی در مقایسه با جوجه‌های سالم، به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. نتایج مشابه از سوی دیگر پژوهشگران گزارش شده است (۳۱و ۴۰).

میزان پروتئین تام سرم در روزهای بعد از چالش در گروه‌های آلوده شده نسبت به گروه کنترل منفی به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. در کلیه روزهای بعد از چالش، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تحت درمان و کنترل مثبت مشاهده نشد. میزان آلبومین سرم در روزهای ۱، ۳، ۶ و ۹ بعد از چالش در کلیه گروه‌های تحت درمان و کنترل مثبت به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل منفی بود. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تحت درمان و گروه کنترل مثبت مشاهده نشد.

عفونت می‌تواند پروتئین‌های سرم را دستخوش تغییر کند (۱۸). در صورت ابتلا به ویروس نیوکاسل و بروز جراحات روده‌ای و سو جذب، ممکن است منجر به از دست رفتن پروتئین شود (۴۲). کاهش آلبومین پلاسما در این بیماری، منجر به کاهش پروتئین تام سرم می‌گردد (۲۵ ,۴۲). دفع آلبومین از طریق ادرار، اسهال و اولسرهای گوارشی و کاهش تولید آلبومین در کبد و جذب ناکافی از جیره، سبب کاهش آلبومین سرم می‌گردد (۲۹). در پاسخ

میزان اسید سیالیک تام در گروه‌های چالش یافته در روز بعد از چالش به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و در روز ۹ به میزان حداکثر خود رسید. میزان اسید سیالیک تام در گروه‌های تحت درمان در مقایسه با گروه کنترل مثبت، تفاوت معنی‌داری نداشت. سیالیک اسید یکی از مشتقات استیله شده نورامینیک اسید است که به‌طور گسترده در بافت‌های پستانداران توزیع شده است. سیالیک اسید یکی از اجزای انتهایی غیر قابل احیای زنجیره کربوهیدارتی گلیکولیپیدها و گلیکوپروتئین‌هاست (۵۰). میزان اسید سیالیک به سرعت متعاقب فرآیندهای التهابی و آسیب افزایش می‌یابد. ارزیابی غلظت اسید سیالیک در تشخیص و پیش‌آگهی سرطان حائز اهمیت است (۱۴). در بررسی Firouzi و همکاران (۲۰) میزان اسید سیالیک در پرندگان فاز حاد در جوجه، غلظت آلبومین حدود ۷۵-۵۰ درصد میزان طبیعی کاهش می‌یابد چون آلبومین یک پروتئین فاز حاد منفی است و در عفونت‌ها و التهاب‌ها کاهش می یابد (۴۱). در پژوهش حاضر، علت افزایش پروتئین تام سرم، علی‌رغم کاهش آلبومین، افزایش گلوبولین‌های سرم خون و از جمله پروتئین‌های فاز حاد موجود در گلوبولین‌های سرم خون است. در اثر عفونت هم‌زمان با ویروس‌های آنفلونزای کم حدت (H9N2) و برونشیت عفونی، گلوبولین‌های سرم و از جمله پروتئین‌های فاز حاد، افزایش معنی‌داری یافته‌اند که منجر به افزایش پروتئین تام سرم شده است.

اکالیپتول یک اکسید ترپونوئید است که در بسیاری از داروهای گیاهی یافت می‌شود که از گونه اکالیپتوس از قبیل *اکالیپتوس گلوبوس لابیل* (*E. globulus Labill*) و *اکالیپتوس ترتیکورنیس* (*E. tereticornis*) استخراج می‌شود (۶). عصاره این گیاه دارای ۸۵-۷۰ درصد سینئول (Cineol) است. در برخی بیماران انسانی مبتلا به سندرم انسداد تنفسی مزمن، از تشدید تنگی نفس جلوگیری می‌کند و عملکرد ریه را بهبود می‌بخشد. استعمال این اسانس به‌صورت استنشاقی، پاسخ بیش از حد مجاری تنفسی در چالش خوکچه هندی با اووالبومین را کاهش و از التهاب جلوگیری می‌کند (۷) اثرات ضد التهابی، آنتی-اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضد تکثیر ویروسی روغن

اکالیپتوس گزارش شده است (۱)؛ البته در دیگر روغن‌های گیاهی از قبیل رزماری و پسیدیوم (psidium) نیز به ترتیب حدود ۴۰ و ۶۰-۴۰ درصد سینئول وجود دارد (۴۷). در بررسی سانتوس و رائو (۴۷)، سینئول در مقایسه با استیل‌سالیسیلیک در کاهش نفوذپذیری و نشت رنگ ناشی از استیک اسید در محوطه شکمی موش، میزان نفوذپذیری و نشت عروقی را حدود ۱۶ درصد کاهش داده است که ناشی از اثرات قابض عروقی سینئول است. در این بررسی میزان اووالبومین در گروه‌های چالش‌یافته و تحت درمان تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل مثبت نداشت که ممکن است ناشی از عدم تأثیر داروهای گیاهی بر میزان این پروتئین فاز حاد در کمپلکس تنفسی جوجه‌های گوشتی و یا تفاوت در نحوه تجویز داروهای گیاهی باشد. فعالیت ضد ویروسی، ضد باکتریایی و ضد قارچی در مورد بسیاری از اسانس‌های گیاهی گزارش شده است (۳۲و ۴۸). به‌عنوان مثال اثر اسانس آویشن شیرازی بر کاهش تکثیر ویروس آنفلوانزای H9N2 و کاهش علائم بالینی نشان داده شده است (۵۱).

در این بررسی، داروهای گیاهی تأثیری در کاهش و یا افزایش پروتئین‌های فاز حاد نداشتند. در بررسی Faghihzadeh و همکاران (۱۹) و Abbasnia و همکاران (۲)، اثر منفی برخی داروهای گیاهی بر میزان تلفات جوجه‌های گوشتی چالش‌یافته با ویروس برونشیت عفونی و آنفلوانزای H9N2 گزارش شده است. این یافته‌ها لزوم استفاده محتاطانه از این محصولات در بیماری‌های تنفسی طیور پس از قضاوت صحیح بالینی را نشان می‌دهد. هر چند ممکن است که نتیجه درمان بیماری‌های تنفسی با استفاده از داروهای گیاهی بر اساس نوع عامل بیماری‌زا و یا گونه پرنده تحت درمان متفاوت باشد؛ در هر حال لازم است در این زمینه پژوهش‌های بیشتری صورت گیرد. نتیجه‌گیری کلی از پژوهش حاضر این است که بر خلاف استفاده‌ی گسترده از داروهای حاوی فراورده‌ها یا اسانس-های گیاهی در درمان کمپلکس‌های تنفسی ناشی از ویروس‌های برونشیت عفونی و آنفلوانزا، این داروها تأثیری بر روند تغییرات پروتئین‌های فاز حاد و دیگر فاکتورهای مرتبط با التهاب ندارند و تأیید سودمندی استفاده از این داروها، نیازمند ارزیابی‌های بیشتر و پژوهش‌های گسترده-تری است.

قدردانی و تشکر

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از حمایت های مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شیراز و کارکنان محترم آزمایشگاه کلینیکال پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز اعلام می‌دارند.

منابع

1-Aazza, S.; Lyoussi, B.; Meg´ıas, C.; Cort´es-Giraldo, I.; Vioque, J.; Figueiredo, A.C. Anti-oxidant, anti-inflammatory and antiproliferative activities of Moroccan commercial essential oils. Nat. Prod. Commun. 2014; 9(4): 587-94.

2-Abbasnia, M.; Mosleh, N.; Dadras, H.; Rezaeinzadeh, Gh. and Boroomand, Z. Effect of different herbal preparations on experimental viral respiratory complex of broilers: clinical, pathological and ciliary activity aspects. J. Herbal. Med. Pharmacol. 2020; 9(3): 277-285.

3-Ali, B.; Al-Wabel N.A.; Shams S.; Ahamad A.; Khan, S.A. and Anwar, F. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. Asian. Pacific. J. Trop. Biomed. 2015; 5(8): 601-611.

4-Asasi, K.; Mohammadi, A.; Boroomand, Z.; Hosseinian, S.A. and Nazifi, S. Changes of several acute phase factors in broiler chickens in response to infectious bronchitis virus infection. Poult. Sci. 2013; 92: 1989-1996.

5-Barbe, F.; Atanasova, K. and Van Reeth, K. Cytokines and acute phase proteins associated with acute swine influenza infection in pigs. Vet. J. 2011;187: 48-53.

6-Barton, A.; Tjandra, J. and Nicholas, P. Chemical evaluation of volatile oils in

Eucalyptus species. J. Agricul. Food. Chem.1989; 37: 1253-7.

7-Bastos, V.P.; Brito, T.S.; Lima, F.J.; Pinho, J.P.; Lahlou, S.; AbreuMatos, F.J. Inhibitory effect of 1,8-cineole on guinea-pig airway challenged with ovalbumin involves a preferential action on electromechanical coupling. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2009; 36: 1120-6.

8-Biswas, N.N.; Saha, S. and Khadem Ali, M. Antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and analgesic activities of ethanolic extract of Mentha arvensis L. Asian. Pacific. J. Trop. Biomed. 2014; 4(10): 792-7.

9-Boiago, M.M.; Baldissera, M.D.; Doleski, P.H.; Bottari, N.B.; do Carmo, G.M.; Araujo, D.N.; Giuriatti, J.; Baggio, V.; Leal, D.B.R.; Casagrande, R.A.; Wisser, C.S.; Stefani, L.M. and da Silva, A.S. Ectonucleotidases and adenosine deaminase activity in laying hens naturally infected by Salmonella gallinarum and their effects on the pathogenesis of the disease. Microbial Pathol. 2016; 93:180-184.

10-Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. Tietz Text-book of Clinical Chemistry. 2th Edition, W.B. Sunders Company, Philadelphia.1994.

11-Ceciliani, F.; Ceron, J. J.; Eckersall, P. D. and Sauerwein, H. Acute phase proteins in ruminants. J. Proteomics. 2012; 75:4207- 4231.

12-Chamanza, R.; Toussaint, M.J.M.; van Ederen, A.M.; van Veen, L. and Hulskamp-Koch, C. Serum amyloid A and transferrin in chicken. A preliminary investigation of using acute phase variables to assess diseases in chickens. Vet. Q. 1999a; 21,158–162.

13-Chamanza, R.; Van Veen, L.; Tivapasi, M.T. and Toussaint, M.J.M. Acute phase proteins in domestic fowl. World's Poult. Sci. J. 1999b; 55, 61-72.

14-Citil, M.; Gunes, V.; Karapehlivan, M.; Atalan, G. and Marasli, S. Evaluation of serum sialic acid as an inflammation marker in cattle with traumatic reticuloperitonitis. Revue de Méd. Vét. 2004; 155: 389-392.

15-da Silva, A.S.; Santurio, J.M.; Roza, L.F.; Bottari, N.B.; Galli, G.M.; Morsch, V.M.; Schetinger, M.R.C.; Baldissera, M.D.; Stefani, L.M.; Radavelli, W.M.; Tomasi, T. and Boiago, M.M. Aflatoxins produced by Aspergillus parasiticus present in the diet of quails increase the activities of cholinesterase and adenosine deaminase. Micro. Pathol. 2017; 107: 309-312.

16-Eckersall, P.D. and Bell, R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. Vet. J. 2010; 185: 23-27.

17-Eming, S.A.; Brachvogel, B.; Odorisio, T. and Koch, M. Regulation of angiogenesis: wound healing as a model. Progress in Histochemistry and Cytochemistry. 2007; 42,115-170.

18-Eze, C.P.; Shoyinka, V.S.O.; Osita, Arinze Okoye, J.; Ezema, W.S.; Ogbonna, I.O.; Eze, D.C.; Okwor, E.C. and Ikejiofor, O.K. Comparison of the serum proteins and immune responses of velogenic Newcastle disease virus infected chickens and ducks. Open. J. Vet. Med. 2014; 4: 122-128.

19-Faghihzadeh, S.; Asasi, K. and Abdi-Hachesoo, B. Effect of relative humidity levels and commercial medicinal treatments in complex respiratory infections and pathology in broilers. Online J. Vet. Res. 2018; 22 (2): 139-149.

20-Firouzi, S.; Nili, H.; Asasi, K.; Nazifi, S.; Mosleh, N.; Habibi, H. and

Mohammadi, M. Acute phase responses in commercial broiler chickens experimentally infected with a highly virulent Newcastle disease virus strain. Online. J. Vet. Res. 2014;18: 495-502.

21-Giansanti, F.; Leboffe, L.; Angelucci, F. and Antonini, G. The nutraceutical properties of ovotransferrin and its potential utilization as a functional food. Nutrients 2015; 7(11): 9105-15.

22-Giansanti, F.; Giardi, M.F.; Massucci, M.T.; Botti, D. and Antonini, G. Ovotransferrin expression and release by chicken cell lines infected with Marek's disease virus. Biochem Cell Biol. 2007; 85:150-155.

23-Habibi, H.; Nili, H.; Asasi, K.; Nazifi, S.; Mosleh, N. and Firouzi, S. Acute phase responses in village chicken challenged by a wild Newcastle disease virus isolate (JF820294.1). Online J. Vet. Res. 2013;17, 571-577.

24-Haq, M.; Haq, S.; Tutt, P. Crook, M. Serum total sialic acid and lipid associated sialic acid in normal individuals' patients with myocardial infarction and their relationship to acute phase proteins. Annals Clin. Biochem.1993; 30:383-386.

25-Harr, K.E. Diagnostic value of biochemistry. In: Harrison, G. J.; Lightfoot, T. L. (eds). Clinical Avian Medicine, International Veterinary Information Service, Ithaca, NY. 2009;115-126.

26-Hassan, K.E.; Shany, S.A.; Ali, A.; Dahshan, A.H.; El-Sawah, A.A. and El-Kady, M.F. Prevalence of avian respiratory viruses in broiler flocks in Egypt. Poult. Sci. 2016; 95:1271-80.

27-Juergens, U.R.; Stçber, M.; Schmidt-Schilling, L.; Kleuver, T. and Vetter H. Anti-inflammatory effects of eucalyptol (1.8-cineole) in bronchial asthma: inhibition of arachidonic acid metabolism in human blood monocytes ex vivo. European. J. Med. Res. 1988; 3:407–12.

28-Kaab, H.; Bain, M.M. and Eckersall, P.D. Acute phase proteins and stress markers in the immediate response to a combined vaccination against Newcastle disease and infectious bronchitis viruses in specific pathogen free (SPF) layer chicks. Poult. Sci. 2018; 97(2):463-469.

29-Kaslow, E.J. Serum Proteins and Functions. California, 2011; 633-675.

30-Katopodis, N.; Hirshaut, Y.; Geller, N.L. and Stock, C.C. Lipid associated sialic acid test for the detection of human cancer. Cancer Res. 1982; 42: 5270–5275.

31-Keles, I.; Ertekin, A.; Karaca, M. and Akkan, S.E.H.A. Research on serum sialic acid and lipid-induced sialic acid levels in leptospirosis of cattle. Yüzüncü. Yıl. Üniversitesi. Veteriner. Fakültesi. Dergisi. 2000; 11, 121-122.

32-Koch, C.; Reichling, J.; Kehm, R.; Sharaf, M.M.; Zentgraf. H.; Schneele. J. and Schnitzler P. Efficacy of anise oil, dwarf-pine oil and chamomile oil against thymidine-kinase-positive and thymidine-kinase-negative herpes viruses. J. Pharma. Pharmacol. 2008; 60 (11): 1545-1550.

33-Kovacs, B.M.; Toussaint, M.J.; Gruys, E.; Fabian, I.B.; Szilagyil, J.J. and Rudas, P .Evaluation of goose serum amyloid A acute phase response by enzyme-linked immunosorbent assay. Acta. Vet. Hungarica. 2007; 55: 349-357.

34-Lautert, C.; Ferreiro, L.; Zimmermann, C.E.P.; Castilhos, L.G.; de Jesus, F.P.K. and Zanette, R.A. In vitro effects of ochratoxin A, deoxynivalenol and zearalenone on cell viability and E-ADA activity in broiler chicken's lymphocytes. Pesquisa.Vet. Brasil. 2014; 34: 1173-

1180.
35-Marques, A.T.; Nordio, L.; Lecchi, C.; Grilli, G.; Giudice, C. and Ceciliani, F. Widespread extrahepatic expression of acute-phase proteins in healthy chicken (*Gallus gallus*) tissues. Vet. Immunol. Immunopathol, 2017; 190: 10-17.
36-Murata, H.; Shimada, N. and Yoshioka, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: An overview. Vet. J. 2004; 168: 28-40.
37-Najafi, P.; Zulkifli, I.; Soleimani, A.F. and Goh, Y.M. Acute phase proteins response to feed deprivation in broiler chickens. Poult. Sci, 2016; 95(4):760-763.
38-Najafi, P.; Zulkifli. I.; Jajuli, N.A.; Farjam, A.S.; Ramiah, S.K.; Amir, A.A. Environmental temperature and stocking density effects on acute phase proteins, heat shock protein 70, circulating corticosterone and performance in broiler chickens. Internat. J. Biometeorol. 2015; 59(11):1577-83.
39-Nazifi, S.; H. Dadras.; S. A. Hoseinian.; M. Ansari-Lari, and M. Masoudian. Measuring acute phase proteins (haptoglobin, ceruloplasmin, serum amyloid A and fibrinogen) in healthy and infectious bursal disease virus-infected chicks. Comp. Clin. Pathol. 2010; 19:283-286.
40-Nazifi, S.; Tabande, M.R.; Hosseinian, S.A.; Ansari-Lari, M. and Safari, H. Evaluation of sialic acid and acute phase proteins (haptoglobin and serum amyloids A) in healthy and avian infection bronchitis virus infected chicks. Comp. Clin. Pathol. 2011; 20: 69-73.
41-O'Reilly, E.L. and Eckersall, P.D. Acute phase proteins: A review of their function, behavior and measurement in chickens. Worlds Poult. Sci. 2014; 70:27-44.
42-Okorie-Kanu, C.O.; Okorie-Kanu, O.J. and Okoye, J.O.A. Blood biochemistry responses of chickens experimentally infected with a velogenic Newcastle disease virus (Kudu 113). Nigerian. Vet. J. 2016; 37: 160-174.
43-Piñeiro, M.; Pineiro, C.; Carpintero, R.; Morales, J.; Campbell, F.M.; Eckersall, P.D.; Toussaint, M.J. and Lampreave, F. Characterization of the pig acute phase protein response to road transport. Vet. J. 2007; 173, 669-74.
44-Rath, N.C.; Anthony, N.B.; Kannan, L.; Huff, W.E.; Huff, G.R.; Chapman, H.D.; Erf, G.F. and Wakenell, P. Serum ovotransferrin as a biomarker of inflammatory diseases in chickens. Poult. Sci. 2009; 88: 2069-2074.
45-Reed, L.J. and Muench, H.A. Simple method of estimating fifty per cent endpoints. Am. J. of Hygiene. 1938; 27:493-497.
46-Roussan, D.A.; Haddad, R. and Khawaldeh, G. Molecular survey of avian respiratory pathogens in commercial broiler chicken flocks with respiratory diseases in Jordan. Poult. Sci. 2008; 87: 444-448.
47-Santos, F.A. and Rao, V.S.N. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of 1, 8-Cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils phytother. Phyto-therapy Res. 2000; 14: 240-44.
48-Schnitzler, P., Koch, C. and Reichling, J. Susceptibility of drug-resistant clinical herpes simplex virus type 1 strains to essential oils of ginger, thyme, hyssop, and sandal wood. Antimic. Agents. Chemo. 2007; 51(5): 1859-1862.
49-Schrödl, W.; Büchler, R.; Wendler, S.; Reinhold, P.; Muckova, P.; Reindl, J. and Rhode, H. Acute phase proteins as promising biomarkers: perspectives and limitations for human and

veterinary medicine. Proteomics. Clin. Appli. 2016; 10:1077-1092.

50-Seyrek, K.; Yaylak, E. and Akşit, H. Serum sialic acid, malondialdehyde, retinol, zinc, and copper concentrations in dairy cows with lameness. Bulletin. Vet. Institute. Pulawy. 2008; 52: 281-284.

51-Shayeganmehr, A.; Vasfi Marandi, M.; Karimi, V.; Barin, A. and Ghalyanchilangeroudi, A. *Zataria multiflora* essential oil reduces replication rate of avian influenza virus (H9N2 subtype) in challenged broiler chicks. British Poult. Sci. 2018; 59(4):389-395.

52-Superti, F.; Ammendolia, M.G.; Berlutti, F. and Valenti, P. Ovotransferrin. in bioactive egg compounds. Huopalahti, R.; Lopez-Fandino, R.; Antonand, M.; Schade, R. ed. Springer-Verlag, Berlin, Germany. 2007; pp: 43-48.

53-Wigley, P. and Kaiser, P. Avian cytokines in health and disease. Revista Brasileira de Ciência Avícola, 2003; 5: 1-14.

54-Xie, H.; Huff, G.R.; Huff, W.E.; Balog, J.M. and Rath, N.C. Effects of ovotransferrin on chicken macrophages and heterophil granulocytes. Develop. Comp. Immunol. 2003;26: 805-815.

Vol.15/No.2
Spring-Summer 2021

Iran. J. Vet. Clin. Sci.; 2021; 15(1): 3-16.

Evaluation of acute phase response in the respiratory disease complex of broiler chickens, treated with herbal medicine alone or in combination with antibiotic

Sobhan Emadi Jamali[1]; Habibollah Dadras[2]; Saeed Nazifi[2*]; Mohammad Abbasnia[1]

1. PhD Student in Avian Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz- Iran.
2. Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz- Iran.

Received: 29 June 2020 ***Accepted:*** 31 August 2020

Summary

Acute phase proteins (APPs) are a group of blood proteins primarily synthesized in the liver. Poultry respiratory diseases are one of the main causes of mortality and economic losses in the poultry industry. Antibiotics and symptom relieving agents are widely prescribed to control the condition. In this experimental study, the effect of different medicaments, including, Mentofin®, Aromex® and Biobron® alone (experiment 1) or in combination with antibiotics (experiment 2) on some APPs such as haptoglobin, serum amyloid A, ovotransferrin, adenosine deaminase, total serum protein, albumin and sialic acid (lipid- and protein- bound sialic acids) of viral respiratory complex (H9N2 AIV+IBV) of broilers was investigated. Significant increase in serum concentrations of haptoglobin, serum amyloid A, ovotransferrin, sialic acid and adenosine deaminase were observed on days' post infection in challenged groups. In experiment 1, treatments did not have significant effect on level of serum APPs in comparison with positive control group. In experiment 2, combination treatment by enrofloxacin did not have any significant effect on serum AAPs concentration. Overall, our results indicated that despite of widespread using of herbal essential oils on treatment of respiratory disease complexes due to infectious bronchitis and influenza viruses, did not have significant effect on measured APPs. In conclusion apparently these herbal medicines alone or in combination with enrofloxacin could not affect the pathogenesis pattern of the disease in relation to APPs production.

Keywords: Respiratory ccomplex, Infectious bronchitis, Avian influenza, Acute phase proteins.

***Corresponding Author**: nazifi@shirazu.ac.ir