ارزیابی اثر افزودن غلظت‌های متفاوت اسانس گیاه آویشن شیرازی به جیره بر سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی

حمید استاجی [*۱](M.Sc)، خسرو قزوینیان [۲](M.Sc)، علی مهدوی [۲](M.D) ، کیوان کرامتی [۳](Ph.D)

۱- گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، ایران

۲- گروه علوم دامی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، ایران

۳- گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: آویشن شیرازی یکی از شناخته‌شده‌ترین گیاهان دارویی از تیره نعنا بوده و دارای خواص دارویی بسیاری از جمله درمان عفونت‌ها و التهابات گوارشی و تنفسی و خواص ضد میکروبی می‌باشد و استفاده از پتانسیل دارویی این گیاهان در عرصه‌های مختلف بسیار ضروری به‌نظر می‌رسد. هدف این تحقیق بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی به جیره جوجه‌های گوشتی بر سیستم ایمنی این پرندگان بود.

مواد و روش‌ها: غلظت‌های متفاوت از اسانس آویشن شیرازی به جیره جوجه‌های گوشتی افزوده شد و سپس عیار آنتی‌بادی های علیه سویه B1 ویروس نیوکاسل و گلبول قرمز گوسفند و هم‌چنین میزان تحریک لنفوسیت‌های T در گروه‌های مختلف مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت.

یافته‌ها: عیار پادتن‌های ایجاد شده علیه ویروس نیوکاسل، در گروه‌های دریافت‌کننده غلظت‌های 400 ppm و ۲۰۰ اسانس آویشن شیرازی در مقایسه با گروه شاهد به‌صورت معنی‌داری ($p<0.01$) بالاتر بود. عیار پادتن‌های ایجاد شده علیه SRBC در گروه دریافت‌کننده 400 ppm اسانس، به‌صورت معنی‌داری کم‌تر ($p<0.05$) و میزان آن در گروه دریافت‌کننده 200 ppm به‌صورت معنی‌داری ($p<0.05$) بالاتر از گروه شاهد می‌باشد. هم‌چنین میزان تورم پوست در آزمون DTH، 48 ساعت پس از تزریق آنتی‌ژن در گروه دریافت‌کننده 200 ppm اسانس به‌صورت معنی‌داری بیش‌تر ($p<0.05$) از گروه شاهد بوده و در گروه دریافت‌کننده 400 ppm اسانس در زمان‌های ۷۲ و ۴۸ ساعت نسبت به سایر گروه‌ها به‌صورت معنی‌داری ($p<0.05$) کم‌تر بود.

نتیجه‌گیری: اثرات اسانس آویشن شیرازی بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی وابسته به دز بوده و در غلظت‌های پایین، این گیاه خاصیت تحریکی بر سیستم ایمنی جوجه‌ها را نشان داد. ازاین رو، استفاده از آویشن شیرازی در غلظت های پایین برای افزایش مقاومت طیور در برابر عفونت های گوارشی و تنفسی توصیه می شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس آویشن شیرازی، ایمنی هومورال، ایمنی سلولی، جوجه گوشتی

مقدمه

در صنعت طیور، کاهش ضریب تبدیل مواد خوراکی جهت افزایش رشد و کاهش هزینه‌های پرورشی و افزایش عملکرد سیستم ایمنی در راستای کاهش شیوع بیماری‌های عفونی اهمیت بالایی داشته [۱] و چندین سال از افزودن ترکیبات شیمیایی و محرک‌های رشد آنتی‌بیوتیکی به این منظور در این صنعت گذشته و هم اکنون نیز، علی‌رغم انتقاداتی که مبنی بر مضرات این گونه ترکیبات بر سلامت انسان و ورود آن‌ها به زنجیره غذایی انسانی وارد است، استفاده از این گونه ترکیبات شیمیایی رایج می‌باشد [۲]. از میان راه‌های افزایش عملکرد رشد، تحریک سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی و کاهش عفونت‌های دوران رشد می‌توان به استفاده از پروبیوتیک‌ها و

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۳-۳۳۶۵۴۲۱۵

Email: hstaji@semnan.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۵/۳۰

گیاهان دارویی در جیره اشاره نموده [۳] و مدارکی علمی مبنی بر وجود آثار مفید استفاده از گیاهان دارویی و عصاره آن‌ها بر کاهش جمعیت باکتری‌های بیماری‌زای دستگاه گوارشی طیور [۴]، فعالیت آنتی‌اکسیدانی [۵]، کمک به هضم مواد غذایی به‌واسطه افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و جذب نیتروژن [۶] و هم‌چنین افزایش عمل‌کرد سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی وجود دارد [۷-۹].

گیاه آویشن شیرازی (Zattaria multiflora) یکی از گونه‌های متعلق به خانواده لابیاتآ (Labiatae) بوده و در مناطق مرکزی و جنوب ایران می‌روید [۱۰] و از قدیم‌الایام تاکنون در طب سنتی به جهت دارا بودن خواص ضد عفونی‌کنندگی، ضد درد و بهبود عمل‌کرد دستگاه گوارش مورد استفاده می‌باشد [۱۱،۱۲]. گیاهان دارویی گروهی از محرک‌ها و تنظیم‌کنندگان سیستم ایمنی موجودات هستند و از زمان‌های کهن از گیاهان دارویی برای بهبود بخشیدن بسیاری از بیماری‌های عفونی و غیر عفونی استفاده می‌شده است [۱۳،۱۴] و با توجه به این اصل که انسان و دام به‌صورت مکرر با عوامل بیماری‌زا مواجه می‌شوند و استفاده از ترکیبات شیمیایی جهت ممانعت از آلودگی و یا بهبود شرایط فیزیولوژیک و ایمنولوژیک بدن مشکلات خاص خود را دارند، لذا استفاده از گیاهان دارویی برای اهداف فوق می‌تواند به عنوان گزینه مناسبی مطرح باشد.

به دلیل اهمیت اقتصادی بالای صنعت پرورش طیور و هم‌چنین در دسترس بودن نژادهای خالص طیور، عمده‌ی مطالعات عمومی درباره سیستم ایمنی و هم‌چنین ارزیابی اثرات عوامل مختلف بر بخش‌های هومورال و سلولی سیستم ایمنی، در پرندگان اهلی و به‌خصوص نژادهای متفاوت گونه مرغ خانگی (Gallus domesticus) انجام می‌شود و همانند سایر پرندگان و دیگر مهره‌داران تکامل‌یافته‌تر از پرندگان، سیستم ایمنی این پرندگان نیز از دو بخش عمده ایمنی غیراختصاصی از قبیل دمای بالای بدن، فلور میکروبی طبیعی سطوح مخاطی و سدهای آناتومیکی و بخش اختصاصی (اکتسابی) سیستم ایمنی شامل ترکیبات غیر سلولی (ایمنوگلوبولین‌ها= ایمنی هومورال) و سلول‌های دخیل در ایمنی اکتسابی به ویژه لنفوسیت‌های T، تشکیل شده است [۱۵]. در پرندگان ایمنوگلوبولین‌ها از کلاس‌های M، Y(G) و A می‌باشند و همانند پستانداران در مواجهه اولیه با یک آنتی‌ژن، ابتدا سطوح آنتی‌بادی نوع M افزایش یافته و مقادیر این نوع آنتی‌بادی نسبت به نوع G بالاتر است، اما در مواجهه‌های بعدی نسبت آنتی‌بادی نوع G در خون نسبت به نوع M افزایش می‌یابد [۱۵،۱۶]. آزمون‌های متفاوتی به منظور ارزیابی سیستم ایمنی در پرندگان در دسترس بوده، اما دو نمونه از این آزمون‌ها که جهت بررسی خصوصیات سیستم ایمنی در بدن پرندگان (in vivo) انجام می‌شود یکی آزمون هماگلوتیناسیون (HA) متعاقب تزریق گلبول‌های قرمز گوسفند (SRBC= Sheep Red Blood Cell) جهت ارزیابی بخش هومورال سیستم ایمنی و دوم استفاده از ترکیبات میتوژن یا محرک تکثیر لنفوسیت‌های T به‌واسطه واکنش ازدیاد حساسیت تاخیری (DTH) به منظور ارزیابی بخش سلولی سیستم ایمنی پرندگان می‌باشد [۱۷]. استفاده از گیاه آویشن شیرازی در طب سنتی از سال‌ها قبل با اهداف مختلف از قبیل درمان عفونت‌های تنفسی، عفونت‌های دستگاه گوارش و روده تحریک‌پذیر مطرح بوده و هم‌چنین آثار ضد میکروبی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی این گیاه از قبل اثبات شده است [۱۸،۱۹] اما یکی از مهم‌ترین عوامل تاثیرگذار در درمان بیماری‌های عفونی در بدن یک میزبان سیستم ایمنی فرد بوده و مطالعه‌ای در این خصوص به بررسی آثار این گیاه بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی نپرداخته است. جوجه‌های گوشتی نژاد راس ۳۰۸ یکی از رایج‌ترین نژادهای پرورشی مرغ در ایران بوده و قابل ذکر است که شیوع و رخداد عفونت‌های مختلف در طی دوران پرورش طیور به عنوان یکی از مهم‌ترین معضلات مطرح بوده و از طرفی امروزه به‌خاطر افزایش مقاومت‌های میکروبی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج، استفاده از ترکیبات طبیعی محرک و تقویت‌کننده سیستم ایمنی به عنوان یکی از بهترین جایگزین‌ها برای ترکیبات شیمیایی معرفی شده‌اند. لذا در مطالعه حاضر بر آن شدیم تا به بررسی

آثار افزایش مقادیر مختلف از اسانس آویشن شیرازی در جیره بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی نژاد راس ۳۰۸ پرداخته تا در صورت مشاهده اثرات مثبت، استفاده از این گیاه در جیره به پرورش‌دهندگان توصیه شود.

مواد و روش‌ها

ابتدا اسانس استاندارد گیاه آویشن شیرازی از شرکت باریج اسانس کاشان (Barij essence, Kashan) تهیه شده و مطابق اطلاعات ارائه شده از شرکت سازنده اسانس حاوی حدود ۳۰ درصد تیمول و ۳۲ درصد کارواکرول بوده و به‌طور کلی بیان شده است که بیش از ۲۹ نوع ماده موثره در ترکیب اسانس این گیاه موجود می‌باشد و از اصلی‌ترین ترکیبات می‌توان به کارواکرول، تیمول و p-cymene اشاره نمود [۲۰].

گروه‌های تیمار: آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی شامل ۴ تیمار (سطوح ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ قسمت در میلیون) ppm و چهار تکرار (۱۵ پرنده در هر تکرار) انجام شد و گروه‌های تیمار در بخش ذیل آورده شده‌اند. سپس از هر تکرار ۵ جوجه به تصادف (۲۰ جوجه به ازاء هر تیمار مطابق گروه‌های قید شده در ذیل) انتخاب و مراحل انجام تست‌های ایمنی‌شناسی بر روی آن‌ها انجام شد.

تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه نژاد راس ۳۰۸ به منظور ارزیابی اثر تحریکی و تنظیم‌کنندگی سیستم ایمنی توسط اسانس مورد نظر، به‌طور تصادفی انتخاب شده و به شرح زیر در دوازده تیمار مختلف قرار گرفتند:

تیمار ۱: تعداد ۲۰ قطعه جوجه یک روزه متشکل از پنج جوجه و چهار تکرار (جیره فاقد اسانس آویشن شیرازی+ واکسن B1 نیوکاسل به عنوان گروه کنترل دریافت‌کننده واکسن).

تیمار ۲: تعداد ۲۰ قطعه جوجه یک روزه متشکل از پنج جوجه و چهار تکرار (جیره حاوی ۱۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی+ واکسن B1 نیوکاسل).

تیمار ۳: تعداد ۲۰ قطعه جوجه یک روزه متشکل از پنج جوجه و چهار تکرار (جیره حاوی ۲۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی+ واکسن B1 نیوکاسل).

تیمار ۴: تعداد ۲۰ قطعه جوجه یک روزه متشکل از پنج جوجه و چهار تکرار (جیره حاوی ۴۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی + واکسن B1 نیوکاسل).

تیمار ۵: تعداد ۲۰ قطعه جوجه یک روزه متشکل از پنج جوجه و چهار تکرار (جیره فاقد اسانس آویشن شیرازی + SRBC به عنوان گروه کنترل دریافت‌کننده SRBC).

تیمار ۶: تعداد ۲۰ قطعه جوجه یک روزه متشکل از پنج جوجه و چهار تکرار (جیره حاوی ۱۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی+SRBC).

تیمار ۷: تعداد ۲۰ قطعه جوجه یک روزه متشکل از پنج جوجه و چهار تکرار (جیره حاوی ۲۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی+SRBC).

تیمار ۸: تعداد ۲۰ قطعه جوجه یک روزه متشکل از پنج جوجه و چهار تکرار (جیره حاوی ۴۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی+SRBC).

تیمار ۹: تعداد ۲۰ قطعه جوجه یک روزه متشکل از پنج جوجه و چهار تکرار (جیره فاقد اسانس آویشن شیرازی + تزریق DNCB به عنوان گروه کنترل دریافت‌کننده DNCB).

تیمار ۱۰: تعداد ۲۰ قطعه جوجه یک روزه متشکل از پنج جوجه و چهار تکرار (جیره حاوی ۱۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی + تزریقDNCB).

تیمار ۱۱: تعداد ۲۰ قطعه جوجه یک روزه متشکل از پنج جوجه و چهار تکرار (جیره حاوی ۲۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی + تزریقDNCB).

تیمار ۱۲: تعداد ۲۰ قطعه جوجه یک روزه متشکل از پنج جوجه و چهار تکرار (جیره حاوی ۴۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی + تزریقDNCB).

جیره پرندگان مورد بررسی بر طبق کاتالوگ پرورش نژاد راس ۳۰۸ و بر اساس جداول آن در سه مرحله جیره آغازین،

جیره رشد و جیره پایانی تهیه گردید و تنها تفاوت جیره در تیمارهای مختلف میزان اسانس افزوده می‌باشد.

ارزیابی ایمنی هومورال: به منظور ارزیابی تاثیر اسانس آویشن شیرازی بر شاخه هومورال سیستم ایمنی پرندگان مورد آزمایش، از سویه B1 واکسن نیوکاسل (موسسه سرم و واکسن‌سازی رازی، تهران) در تیمارهای یک تا چهار و هم‌چنین گویچه‌های قرمز خون گوسفند (SRBC) در تیمارهای پنج تا هشت، به عنوان پادگن استفاده شد. در سن شش روزگی از پرندگان خون‌گیری به عمل آمده و عیار پایه پادتن‌های مادری علیه سویه B1 ویروس نیوکاسل و SRBC در سرم خون آن‌ها قبل از تجویز پادگن‌های مورد نظر، تعیین گردید. سپس تجویز ویروس نیوکاسل به روش قطره چشمی و تجویز سوسپانسیون ٪۲ SRBC در محلول بافر فسفاته (PBS) به روش تزریق داخل وریدی پرندگان مورد بررسی طبق روال زیر انجام شد:

اولین تزریق SRBC در سن هفت روزگی و تزریق یادآور در سن ۲۱ روزگی (۱۴ روز بعد) انجام شده و شش روز پس از اولین و دومین تزریق، خون‌گیری و تعیین عیار پادتن‌های علیه پادگن فوق صورت پذیرفت. در مورد ویروس B1 نیوکاسل نیز اولین تجویز در سن هفت روزگی، هنگامی که میانگین عیار پادتن‌های مادری علیه نیوکاسل به میزان ($\log_2$ titer=۶/۵) رسیدند انجام شده و سپس تجویز یادآور در سن ۲۱ روزگی (۱۴ روز بعد) انجام گرفته و هفت روز پس از تجویز اول و دو هفته پس از تجویز دوم واکسن نمونه‌گیری و تعیین عیار پادتن‌های علیه سویه نیوکاسل B1 انجام گرفت.

نمونه‌های سرم خون پرندگان مطابق پروتکل Moro و همکاران (۲۰۰۰) قبل از انجام آزمون‌های ارزیابی تحت تیمار حرارتی در دمای ۵۶ سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفته [۲۱] و سپس تعیین عیار پادتن‌های (IgM+IgG) علیه ویروس نیوکاسل بر اساس آزمون ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI= Hemagglutination Inhibition) مطابق پروتکل Afonso و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد به این صورت که ابتدا در پلیت‌های میکروتیتر رقت‌های ۱/۲ تا ۱/۱۰۲۴ از سرم خون پرنده با بافر فسفاته تهیه و هم حجم آن‌ها به هر گوده از ویروس سویه B1 نیوکاسل (چهار برابر عیار HA) افزوده شد و پس از طی زمان انکوباسیون در دمای آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه، به هر گوده میزان ۵۰ میکرولیتر از RBC طیور ۲-۱ درصد افزوده شد و پس از طی زمان ۴۵ دقیقه نتایج قرائت می‌شد و آخرین گوده‌ای که در آن از هماگلوتیناسیون جلوگیری به عمل آمده بود به عنوان تیتر یا عیار آنتی‌بادی‌های علیه واکسن نیوکاسل در نظر گرفته می‌شد. هم‌چنین تعیین عیار پادتن‌های (IgM+IgG) علیه SRBC به‌واسطه آزمون هماگلوتیناسیون (HA= Hemagglutination Assay) مطابق پروتکل ارائه شده توسط Grasman (۲۰۰۹) انجام شد به این صورت که پس از تهیه سرم خون پرنده و قرارگیری سرم در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه، در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای رقت‌سازی سرم‌ها مطابق آن‌چه که در آزمون HI انجام شده بود صورت پذیرفته و سپس از سوسپانسیون ۲-۱ درصد گلبول قرمز گوسفند (SRBC)به میزان هم حجم نمونه‌های سرم رقت‌سازی شده به هر گوده افزوده شده و پس از طی مدت زمان انکوباسیون یک ساعت نتایج قرائت می‌شد و آخرین گوده‌ای که در آن آگلوتیناسیونSRBC اتفاق افتاده بود به عنوان تیتر یا عیار آنتی‌بادی در نظر گرفته می‌شد [۲۳،۲۲].

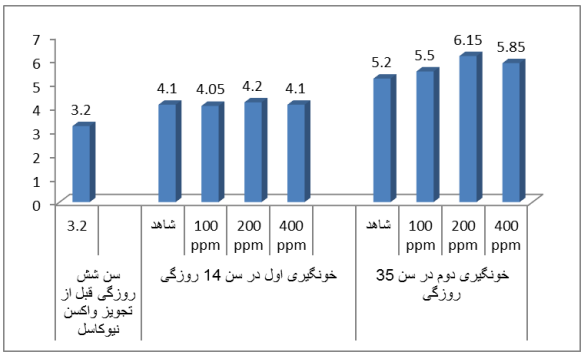
ارزیابی ایمنی سلولی: جهت بررسی و ارزیابی شاخه سلولی ایمنی پرندگان مورد آزمایش از آزمون ازدیاد حساسیت تاخیری (DTH= Delayed Typed Hypersensitivity) مطابق پروتکل ارائه شده توسط Munir و همکاران (۲۰۰۹) استفاده شد [۲۴] به این صورت که دو هفته پس از تجویز ثانویه واکسن و SRBC، تمامی پرندگان (تیمارهای نه تا دوازده) مورد مطالعه توسط ۰/۲۵ میلی‌لیتر از محلول(2, 4- DiNitro ChloroBenzene) (DNCB) (با غلظت ۱۰ mg/ml) که از راه زیرجلدی در ناحیه سینه تزریق شد، حساس شدند و سپس دومین تزریق DNCB باغلظت ۱/۵ mg/ml به میزان ۰/۲۵ میلی‌لیتر به فاصله دو سانتی‌متر سمت راست از محل اولین تزریق به‌صورت زیرجلدی تزریق

شده و ضخامت پوست موضع تزریق ثانویه ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از تزریق توسط کولیس (با دقت ۰/۰۲ میلی‌متر) اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری. نتایج به‌صورت میانگین± انحراف معیار ارائه شده است. نرمال بودن داده‌ها به روش Kolmograph-Smirnov بررسی شد و سپس تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ به روش ANOVA یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey جهت مقایسه بین تیمارهای مختلف در سطح معنی‌داری $p<0/05$ بر روی داده‌ها انجام شد.

نتایج

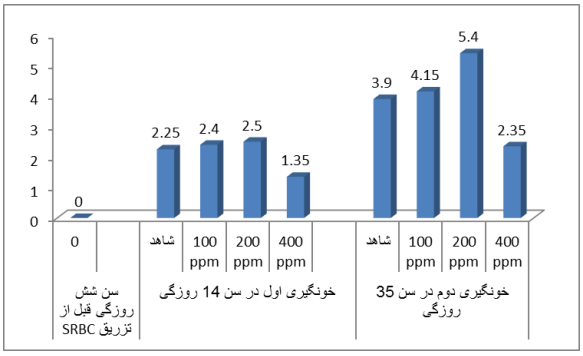
نتایج آزمون HI. میانگین تیتر و عیار آنتی‌بادی‌های علیه ویروس نیوکاسل استفاده شده در گروه‌ها و روزهای مختلف در نمودار ۱ ارائه شده‌اند. در ارزیابی و مقایسه میزان عیار پادتن‌های ایجاد شده علیه سویه B1 ویروس نیوکاسل در آزمون HI، مشخص شد که در اولین نمونه‌گیری (شش روز پس از اولین تجویز واکسن) هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری مابین میانگین عیار پادتن‌ها در تیمارهای مختلف دریافت‌کننده غلظت‌های متفاوت اسانس آویشن شیرازی در جیره و مقایسه آن‌ها با گروه شاهد مشاهده نشد. در ارزیابی صورت گرفته در دومین نمونه‌گیری (۲۱ روزگی)، مشخص شد که میزان عیار پادتن‌های ایجاد شده علیه این سویه از ویروس نیوکاسل، در تیمارهای دریافت‌کننده غلظت ppm ۴۰۰ و ۲۰۰ اسانس آویشن شیرازی هر دو در مقایسه با تیمار شاهد به‌صورت معنی‌داری ($p<0/01$) بالاتر بوده و همچنین در مقایسه صورت گرفته در میان تیمارهای مختلف دریافت‌کننده اسانس در جیره، گروه دریافت‌کننده ppm ۲۰۰ با گروه دریافت‌کننده ppm ۱۰۰ به‌شکل معنی‌داری بیش‌تر ($p<0/01$) بود. (شکل ۱).



شکل ۱.مقایسه میانگین Log10 عیار پادتن های ایجاد شده علیه سویه B1 ویروس نیوکاسل در گروه های دریافت کننده غلظت های ppm 400 و ۲۰۰، ۱۰۰ اسانس گیاه آویشن شیرازی در جیره در طول دوره پرورش.

نتایج آزمون HA. میانگین تیتر و عیار آنتی‌بادی‌های علیه سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفند استفاده شده در گروه‌ها و روزهای مختلف در نمودار ۲ ارائه شده‌اند. در ارزیابی و مقایسه میزان عیار پادتن‌های ایجاد شده علیه SRBC در آزمون هماگلوتیناسیون، مشخص شد که در اولین نمونه‌گیری (شش روز پس از اولین تزریق SRBC)، میزان عیار پادتن‌های ایجاد شده در گروه‌های دریافت‌کننده ppm ۴۰۰ اسانس آویشن شیرازی با اختلاف معنی‌داری ($p<0/05$) پایین‌تر از گروه شاهد بوده و هم‌چنین میزان عیار پادتن‌های ایجاد شده در گروه دریافت‌کننده ppm ۴۰۰ در مقایسه با گروه‌های دریافت‌کننده ppm ۲۰۰ و ۱۰۰ اسانس آویشن شیرازی نیز اختلاف معنی‌داری (پایین‌تر) داشت ($p<0/05$). در ارزیابی صورت گرفته در دومین نوبت نمونه‌گیری (۲۱ روزگی)، مشخص شد که میزان عیار پادتن‌های ایجاد شده علیه SRBC در گروه دریافت‌کننده ppm ۴۰۰ اسانس آویشن شیرازی به‌صورت معنی‌داری کم‌تر ($p<0/05$) از گروه شاهد بوده و میزان آن در گروه دریافت‌کننده غلظت ppm ۲۰۰ اسانس به‌صورت معنی‌داری ($p<0/05$) بالاتر از گروه شاهد می‌باشد. هم‌چنین در مقایسه عیار پادتن‌های ایجاد شده علیه SRBC در گروه‌های مختلف دریافت‌کننده اسانس آویشن شیرازی در دومین نوبت خون‌گیری مشخص شد که میزان عیار در هر سه گروه دریافت‌کننده اسانس با یک‌دیگر تفاوت معنی‌دار ($p<0/05$) داشته به این صورت که بالاترین عیار در

گروه دریافت‌کننده ppm ۲۰۰ مشاهده شده و به ترتیب در گروه‌های دریافت‌کننده ppm ۱۰۰ کاهش عیار پادتن‌ها و نهایتاً در گروه دریافت‌کننده ppm ۴۰۰ کم‌ترین میزان عیار پادتن‌ها علیه SRBC را در مقایسه با سایر گروه‌ها داشتند. (شکل ۲).



شکل ۲. مقایسه میانگین Log10 عیار پادتن های ایجاد شده علیه گلبول قرمز گوسفند (SRBC) در گروه های دریافت کننده غلظت های ppm 400 و ۲۰۰، ۱۰۰ اسانس گیاه آویشن شیرازی در جیره در طول دوره پرورش.

نتایج آزمون DTH. مقایسه ضخامت پوست جوجه‌های مورد مطالعه در محل تزریق ثانویه DNCB، نشان داد که در تمامی گروه‌های مورد مطالعه بیش‌ترین میزان تورم پوست ۲۴ ساعت پس از تزریق نسبت به سایر زمان‌های مورد بررسی رخ داد. هم‌چنین میزان تورم و ضخامت پوست در گروه دریافت‌کننده غلظت ppm ۲۰۰ اسانس آویشن شیرازی در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق ثانویه بیش از گروه شاهد بوده و این میزان تورم فقط در زمان ۴۸ ساعت پس از تزریق در مقایسه با گروه شاهد معنی‌دار ($p<0/05$) بود. در مقایسه صورت گرفته در میان گروه‌های مختلف دریافت‌کننده اسانس آویشن شیرازی، مشخص شد که میزان ضخامت و تورم پوست در گروه دریافت‌کننده ppm ۴۰۰ اسانس در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق ثانویه نسبت به تورم پوست گروه‌های دریافت‌کننده ppm ۲۰۰ و ۱۰۰ اسانس آویشن شیرازی به‌صورت معنی‌داری ($p<0/05$) کم‌تر بود.

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه عوامل مختلفی شناسایی شده‌اند که قادرند سیستم ایمنی انسان و یا حیوانات را تحت تاثیر آثار منفی خود قرار دهند و از این قبیل عوامل می‌توان به بیماری‌های عفونی، بدخیمی‌ها، استفاده از کورتیکواستروئیدها در انسان، سندروم‌های نقص ایمنی و هم‌چنین شرایط خاص پرورشی در حیوانات مانند تراکم بالا و ازدحام در محل پرورش، شرایط نامساعد بهداشتی، استفاده ناصحیح از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیف و برخی آثار منفی اصلاح نژاد دام‌ها بر سیستم‌های فیزیولوژیک و ایمنولوژیک اشاره نمود [۲۵،۹]. باتوجه به مسائل ذکر شده، استفاده از ترکیبات محرک و یا تنظیم‌کننده سیستم ایمنی چه به عنوان یک عامل پیشگیرانه و چه به عنوان بخشی از برنامه درمانی بسیاری از مشکلات عفونی و هم‌چنین بهبود عملکرد سیستم ایمنی متعاقب برنامه‌های واکسیناسیون در جهت افزایش کارایی واکسن‌ها، بسیار مورد توجه و اهمیت می‌باشد و استفاده از گیاهان دارویی در این خصوص بسیار توصیه شده [۲۶-۲۸] و آثار ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آویشن شیرازی توسط برخی از محققان در کارهای تحقیقاتی بیان شده‌اند [۳۰،۲۹،۲۰].

شاخه هومورال سیستم ایمنی یک سری از واکنش‌های مابین لنفوسیت‌های B میزبان و مولکول پادگن را شامل می‌شود که نتیجه این واکنش‌ها تکثیر و تمایز این گروه از لنفوسیت‌ها و تبدیل آن‌ها به پلاسماسل‌های ترشح‌کننده پادتن‌ها بوده و در نهایت پادتن‌ها پس از اتصال به پادگن منجر به خنثی‌سازی آن و یا شناسایی و بلع راحت‌تر و سریع‌تر آن‌ها توسط سلول‌های بیگانه‌خوار می‌شود و هم‌چنین واکنش DTH در میزبان به‌عنوان یکی از پاسخ‌های ایمنی مطرح می‌باشد که مستقیماً با شاخه سلولی و عملکرد لنفوسیت‌های T میزبان در ارتباط است [۳۱]. در مطالعه حاضر نتایج دریافت شده در اثر افزودن غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی به جیره جوجه‌های نژاد راس ۳۰۸ و تاثیر آن بر ایمنی خونی و سلولی ایجاد شده علیه پادگن سویه واکسینال B1 ویروس نیوکاسل نشان داد که اسانس فوق در

غلظت‌های ppm ۴۰۰ و ۲۰۰ در جیره می‌تواند باعث تحریک شاخه هومورال سیستم ایمنی شده و افزایش پادتن‌های ایجاد شده را به همراه داشته باشد و این یافته با نتایج سایر تحقیقات تا حدودی هم‌خوانی دارد، برای مثال Khosaravi و همکاران (۲۰۰۷) با تجویز اسانس این گیاه در خرگوش و سپس ارزیابی ایمنی ایجاد شده علیه مخمر کاندیدا آلبیکنس، دریافتند که در مقادیر خاصی این اسانس می‌تواند باعث افزایش میزان عیار پادتن‌ها و تحریک سیستم ایمنی شود [۳۲]. در مطالعه حاضر مشخص شد که افزودن غلظت‌های مختلف اسانس به جیره در اولین نوبت خون‌گیری تاثیری خاص بر افزایش عیار پادتن‌های ایجاد شده علیه سویه B1 ویروس نیوکاسل نداشته و در دومین نوبت خون‌گیری افزایش عیار پادتن‌ها در غلظت‌هایی خاص مشاهده شد. با توجه به این موضوع که نوع ایمنوگلوبولین‌های ایجاد شده و نسبت آن‌ها در اولین و دومین مواجهه با پادگن‌ها در سرم خون میزبان متفاوت است، به این صورت که در اولین مواجهه مقادیر ایمنوگلوبولین M (IgM) بیش‌تر بوده و در مواجهه‌های بعدی نسبت ایمنوگلوبولین G (IgM) به سایرین در سرم خون بیش‌تر می‌باشد و از طرفی واسطه‌های شیمیایی بین سلولی بسیار متنوعی در تغییر و تحول نوع پادتن‌ها دخیل هستند [۳۱]، لذا می‌توان این‌طور نتیجه‌گیری نمود که در مسیرهای تولیدی IgG، اسانس آویشن شیرازی در غلظت‌هایی خاص می‌تواند باعث تغییراتی در جهت تقویت و افزایش سطوح ایمنی علیه ویروس عامل بیماری نیوکاسل شود. یکی از علت‌های قابل پذیرش این تغییر مثبت را می‌توان در افزایش تعداد لنفوسیت‌های B خون میزبان در نظر گرفت، در مطالعه‌ای که Soltani و همکاران (۲۰۱۰) انجام دادند مشخص شد که افزوده اسانس گیاه فوق به جیره ماهی کپور پرورشی باعث افزایش تعداد لنفوسیت‌های خون حیوانات مورد بررسی می‌شود [۳۳] گرچه تفاوت گونه حیوانی بسیار در این امر موثر بوده و بایستی تاثیر اسانس فوق به‌صورت ویژه در جوجه‌های گوشتی نیز مورد بررسی قرار گیرد.

در خصوص میزان عیار پادتن‌های ایجاد شده علیه SRBC در پرندگان مورد بررسی در مطالعه حاضر طبق انتظار و باتوجه به این‌که پرندگان هیچ‌گونه مواجهه‌ای با SRBC از قبل نداشته‌اند، قبل از تزریق SRBC تعیین عیار انجام شده تا در صورتی که هر گونه پادتنی با واکنش متقاطع در سرم آن‌ها با این پادگن وجود داشته باشد شناسایی شود. شش روز پس از اولین تزریق SRBC اولین نمونه‌گیری انجام شده و مقادیر عیار ذکر شده در نمودار ۲ در گروه‌های مختلف مشاهده شد و مقایسه میزان عیار نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) عیار پادتن‌های ایجاد شده در گروه دریافت‌کننده غلظت ppm ۴۰۰ اسانس آویشن شیرازی بود و این امر می‌تواند نشان‌دهنده اثرات معکوس این اسانس بر سیستم ایمنی هومورال در غلظت‌هایی خاص باشد که می‌توان دلیل آن را تاثیر مواد موثره موجود در اسانس در غلظت فوق بر مکانیسم‌های تولید پادتن و یا احتمالاً عدم طی فاصله زمانی کافی برای رسیدن پادتن‌ها به غلظت‌های قابل تشخیص دانست. هم‌چنین در نمونه‌گیری ثانویه پس از دومین تزریق SRBC ۲۱ (روزگی) تعیین عیار مشخص نمود که میزان عیار پادتن‌ها در گروه دریافت‌کننده ppm ۲۰۰ اسانس با اختلاف معنی‌داری بیش از سایر گروه‌ها بوده و گروه دریافت‌کننده ppm ۴۰۰ اسانس به‌صورت معنی‌داری کم‌تر از سایر گروه‌ها دارای پادتن در سرم خود بودند. نتایج حاصله نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) غلظت پادتن‌ها در سرم پرندگان دریافت‌کننده بالاترین غلظت اسانس آویشن شیرازی در جیره بودند و این امر احتمال تاثیر معکوس اسانس گیاه فوق را در غلظت ذکر شده و احتمالاً غلظت‌های بالاتر بر سیستم ایمنی هومورال و پادتن‌های ایجاد شده نشان می‌دهد. در برخی از مطالعات انجام شده بر روی تاثیرات اسانس و یا عصاره آبی گیاه آویشن شیرازی بر سیستم ایمنی در حیوانات آزمایشگاهی، در مواردی افزایش عمل‌کرد سیستم ایمنی و در مواردی در غلظت‌های بالاتر سرکوب سیستم ایمنی مشاهده شده [۳۴] و این امر با توجه بر واکنش‌های ایجاد شده میان سلول‌های مختلف سیستم ایمنی در هنگام ایجاد پاسخ علیه

پادگنی خاص تا حدودی قابل توجیه بوده و دلیل آن می‌تواند سرکوب لنفوسیت‌های T در غلظت بالای اسانس و تاثیر منفی آن بر میزان پادتن‌های ایجاد شده باشد [۳۶،۳۵].

در مطالعه حاضر ارزیابی اثرات غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی بر شاخه سلولی سیستم ایمنی پرندگان مورد بررسی نشان داد که در بررسی اولیه، در تمامی گروه‌های مورد آزمایش تورم پوست در محل تزریق ثانویه DNCB، ۲۴ ساعت پس از تزریق بیش‌ترین میزان تورم را نسبت به سایر زمان‌ها داشت. هم‌چنین در مقایسه این شاخص در میان گروه‌های دریافت‌کننده اسانس نشان‌دهنده بیش‌ترین میزان تورم در گروه دریافت‌کننده ppm ۲۰۰ اسانس در جیره در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق بوده و این میزان تورم فقط در ۴۸ ساعت پس از تزریق اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها را نشان داد. از طرفی در گروه دریافت‌کننده ppm ۴۰۰ از اسانس مزبور در جیره مشخص شد که میزان تورم در زمان‌های ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از تزریق ثانویه کم‌تر از سایر گروه‌ها بوده و مقایسه آن با میزان تورم گروه‌های دریافت‌کننده ppm ۲۰۰ و ۱۰۰ از اسانس نشان‌دهنده کاهش اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) این شاخص در ساعات ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق بود. نتایج حاصله از مطالعه حاصل نشان‌دهنده تاثیر منفی وابسته به غلظت اسانس آویشن شیرازی در جیره پرندگان مورد ارزیابی را نشان می‌دهد. نتایج اخذ شده از تاثیر اسانس آویشن شیرازی بر شاخه سلولی سیستم ایمنی در مطالعات سایرین نشان‌دهنده نتایج متفاوتی می‌باشد، برای مثال Shokri و همکاران (۲۰۰۶) پس از بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی بر ایمنی ذاتی و سلولی خرگوش دریافتند که این گیاه تاثیر فزاینده‌ای بر ایمنی سلولی داشته و تحریک معنی‌دار و بالاتری را در سلول‌های سیستم ایمنی حیوانات مورد بررسی علیه مخمر کاندیدا آلبیکنس و ترکیب کونکاناوالین A به‌عنوان محرک سیستم ایمنی سلولی ایجاد می‌نماید [۷] و هم‌چنین افزودن آن به جیره ماهیان کپور باعث تحریک ایمنی سلولی و افزایش تعداد لنفوسیت‌ها در خون محیطی این حیوان می‌شود [۳۳]، در حالی که در مطالعه صورت گرفته توسط Amirghofran و همکاران (۲۰۱۱)، تاثیر عصاره آویشن شیرازی در هگزان را بر روی واکنش تکثیر لنفوسیت‌های محیطی خون سنجیده و دریافتند که در غلظت‌های خاصی این عصاره تاثیر منفی بر میزان تکثیر لنفوسیت‌های خون محیطی تحریک شده به‌واسطه فیتوهماگلوتینین را در شرایط آزمایشگاهی بر ایمنی سلولی دارد و این محققان با تجزیه ترکیبات موجود در عصاره آویشن دریافتند که تیمول اصلی‌ترین ترکیب موجود در اسانس و عصاره این گیاه است که در غلظت‌هایی خاص می‌تواند تاثیر منفی بر تکثیر لنفوسیت‌های خون محیطی در شرایط آزمایشگاهی گذاشته و به عبارتی موجود سرکوب سیستم ایمنی سلولی شود [۳۴]. با توجه به یافته‌های فوق و تفاوت‌ها و شباهت‌های نتایج حاصل از مطالعه حاضر با سایر پژوهش‌های صورت گرفته، به‌نظر می‌رسد که تاثیر اسانس آویشن شیرازی بر سیستم ایمنی بستگی تام بر میزان غلظت مورد استفاده و نوع حیوان مورد بررسی داشته و با توجه به خواص بسیار مفیدی که این گیاه دارد در نهایت تجزیه کامل و شناسایی ترکیبات موجود در آن و بررسی تاثیر هر یک از آن ترکیبات بر میزبان‌های مختلف پیشنهاد می‌شود تا بتوان به صورت صحیح و قطعی از این گنجینه سبز موجود در این مرز و بوم استفاده بهینه را برد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های دانشکده دام‌پزشکی دانشگاه سمنان، آقای سید رسول رستمی لیما و خانم‌ها بهناز رئیسیان و منصوره کنعانی که در انجام بخش آزمایشگاهی این پژوهش همکاری نموده‌اند، اعلام می‌دارند.

منابع

[1] Lannaon WJ. Herbal trees used as antibiotics for broilers. World Poultry 2009; 25: 28-29.

[2] LANGEROUDI G, Kiaei S, Modirsanei M, Mansouri B, Estabragh AS. Comparison of chemical and biological growth promoter with two herbal natural feed

additives on broiler chicks performance. Journal of Animal Veterinary Advances 2008; 7: 570-574.

[3] Vanbelle M, Teller E, Focant M. Probiotics in animal nutrition: a review. Arch Tierernahr 1990; 40: 543-67.

[4] Cross D, Svoboda K, Hillman K, Mcdevitt R, Acamovic T, editors. Effects of Thymus vulgaris L. essential oil as an in vivo dietary supplement on chicken intestinal microflora. Proc 33th Int Symp Essen Oils, Lisbon, Portugal; 2002.

[5] Lewis M, Rose S, Mackenzie A, Tucker L. Effects of dietary inclusion of plant extracts on the growth performance of male broiler chickens. Br Poul Sci 2003; 44: 43-44.

[6] Gill C. Safe and sustainable feed ingredients. Feed Int 2001; 22: 40-45.

[7] Shokri H, Asadi F, Bahonar AR, Khosravi AR. The role of Zataria multiflora essence (Iranian herb) on innate immunity of animal model. Iran J Immunol 2006; 3: 164.

[8] Emmendörffer AC, Wagner H, Lohmann-Matthes M-L. Immunologically active polysaccharides from Echinacea purpurea plant and cell cultures. Immunomodulatory agents from plants. Springer 1999; p: 89-104.

[9] Barbour E, Abi Ghanem D, Hmadeh S, Eid A, Talhouk R. Hilan. characterisation of non specificity in herbal immunopotentiators of the cell mediated and humoral immune systems of chickens. J Am Holistic Veterinary Med Assoc 1996; 15: 5-7.

[10] Amin GR. Popular medicinal plants of Iran: Iranian Research Institute of Medicinal Plants Tehran; 1991.

[11] Mozaffarian V. A dictionary of Iranian plant manes. 2nd. Farhang Moaser Publication, Tehran 1998.

[12] Jafari S, Amanlou M, Borhan-Mojabi K, Farsam H. Comparartive study of Zataria multiflora and Anthemis nobelis extracts with Myrthus communis preparation in the treatment of recurrent aphthous stomatitis. DARU J Pharm Sci 2003; 11: 23-27. (Persian).

[13] Paulsen B. Plant polysaccharides with immunostimulatory activities. Curr Org Chem 2001; 5: 939-950.

[14] Ahmadi M, Hajihashemi S, Chehrei A, Hosseini N. Therapeutic effects of Urtica dioica methanolic extract on gentamicin induced nephrotoxicity in rats. Koomesh 2014; 15: 220-231.

[15] Tirziu E, Seres M. Particularities of the avian immune system. LUCR {RI ST» INIFICE MEDICIN {VETERINAR {VOL XLIII (1), 2010 TIMISOARA Immunology and Disease Prevention in Poultry 2010.

[16] Fan J, Zuo Y, Li T, Zhang X. Preparation and physicochemical property of chicken yolk immunoglobulin (IgY) against porcine transmissible gastroenteritis virus (TGEV). Front Agriculture China 2009; 3: 466-70.

[17] Grasman KA. Assessing immunological function in toxicological studies of avian wildlife. Integr Comp Biol 2002; 42: 34-42.

[18] Jebelli Javan A, Ghazvinian K, Mahdavi A, Javaheri vayeghan A, Staji H, GHaffari KHaligh S. The effect of dietary Zataria multiflora Boiss. essential oil supplementation on microbial growth and lipid peroxidation of broiler breast fillets during refrigerated storage. J Food Proces Pres 2013; 37: 881-888. (Persian).

[19] Jebelli Javan A. Combinational effects of Trachyspermum ammi and Zataria multiflora Boiss essential oils on some pathogenic food-borne bacteria. Koomesh 2016; 17: 374-383. (Persian).

[20] Eftekhar F, Zamani S, Yusefzadi M, Hadian J, Ebrahimi SN. Antibacterial activity of Zataria multiflora Boiss essential oil against extended spectrum β lactamase produced by urinary isolates of Klebsiella pneumonia. Jundishapur J Microbiol 2011; 4: 43-49. (Persian).

[21] de Sousa RL, Montassier HJ, Pinto AA. Detection and quantification of antibodies to Newcastle disease virus in ostrich and rhea sera using a liquid phase blocking enzyme-linked immunosorbent assay. Clin Diagn Lab Immunol 2000; 7: 940-944.

[22] Grasman KA. In vivo functional tests for assessing immunotoxicity in birds. Methods Mol Biol 2010; 598: 387-398.

[23] Choi KS, Kye SJ, Kim JY, Damasco VR, Sorn S, Lee YJ, Choi JG, Kang HM, Kim KI, Song BM. Molecular epidemiological investigation of velogenic Newcastle disease viruses from village chickens in Cambodia. Virus Genes 2013; 47: 244-249.

[24] Munir K, Muneer M, Tiwari A, Masaoud E, Chaudhry R. Effects of salinomycin on cell-mediated immunity of broiler chickens against hydropericardium syndrome and Newcastle disease viruses. Poult Sci 2009; 88: 86-91.

[25] Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA. Clinical mycology: Elsevier Health Sciences; 2009.

[26] Lai P, Roy J. Antimicrobial and chemopreventive properties of herbs and spices. Curr Med Chem 2004; 11: 1451-1460.

[27] Bogusz MJ, Al Tufail M, Hassan H. How natural are 'natural herbal remedies'? Adverse Drug React Toxicol Rev 2002; 21: 219-29.

[28] Song X, Hu S. Adjuvant activities of saponins from traditional Chinese medicinal herbs. Vaccine 2009; 27: 4883-4890.

[29] Li TS. Medicinal plants: Culture, utilization and phytopharmacology: CRC press; 2000.

[30] Sajed H, Sahebkar A, Iranshahi M. Zataria multiflora Boiss.(Shirazi thyme)—an ancient condiment with modern pharmaceutical uses. J Ethnopharmacol 2013; 145: 686-698.

[31] Dzik JM. The ancestry and cumulative evolution of immune reactions. Acta Biochim Pol 2010; 57: 443-466.

[32] Khosravi A, Franco M, Shokri H, Yahyaraeyat R. Evaluation of the effects of Zataria multiflora, Geranium pelargonium, Myrthand Lemonessences on immune system function in experimental animals. J Vet Res 2007; 62: 119-123.

[33] Soltani M, Sheikhzadeh N, Ebrahimzadeh-Mousavi H, Zargar A. Effects of Zataria multiflora essential oil on innate immune responses of common carp (Cyprinus carpio). J Fisher Aqua Sci 2010; 5: 191-199. (Persian).

[34] Amirghofran Z, Hashemzadeh R, Javidnia K, Golmoghaddam H, Esmaeilbeig A. In vitro immunomodulatory effects of extracts from three plants of the Labiatae family and isolation of the active compound (s). J Immunotoxicol 2011; 8: 265-273.

[35] Szabo SJ, Sullivan BM, Peng SL, Glimcher LH. Molecular mechanisms regulating Th1 immune responses. Ann Rev Immunol 2003; 21: 713-758.

[36] Zhang W, Wang L, Liu Y, Chen X, Liu Q, Jia J, Yang T, Qiu S, Ma G. Immune responses to vaccines involving a combined antigen–nanoparticle mixture and nanoparticle-encapsulated antigen formulation. Biomaterials 2014; 35: 6086-6097.

Effects of different concentration of *Zattariamultiflora* essence on immunity system of broilers

Hamid Staji (M.Sc)[1*], Khosro Ghazvinian (M.Sc)[2], Ali Mahdavi (M.D)[2], Keivan Keramati (Ph.D)[3]
1 – Dept. of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran
2 – Dept. of Animal Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran
3 – Dept. of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran

(Received: 3 Apr 2016; Accepted: 20 Aug 2016)

Introduction*: Zattariamultiflora* (*Z. multiflora*) is a herb belonging to *Labiatae* family with known therapeutic effects, like anti-inflammatory and antimicrobial activity especially for gastrointestinal tract and respiratory systems and use of such herbs seems to be necessary in today's medicine. The aim of present study was to evaluate the effects of *Z. multiflora* essence on immunity of broilers.

Materials and Methods*:* Different concentrations of *Z. multiflora* were added to the food of broilers, then the antibody titer's were measured for Sheep Blood Cells (SRBC) and Newcastle Disease virus (NDV) plus stimulation rate of T-lymphocytes by Delayed-Typed Hypersensitivity (DTH) assay

Results*:* Assays revealed that addition of 200 & 400 ppm of *Z. multiflora* essence in the diet of broilers increased Ab levels against NDV, statistically ($p<0.01$) and the Ab levels against SRBC in the group receiving 200 ppm of essence was increased ($p<0.05$), while in the group receiving 400 ppm of the essence Ab levels against SRBC was decreased statistically ($p<0.05$) in comparison to control group. Also in DTH assay, the skin thickening 48 hours post Ag challenge was higher statistically ($p<0.05$) in the group receiving 200 ppm of the essence compared to control group, but in group receiving 400 ppm of the essence 48 and 72 h post Ag challenge, skin thickening was statistically lower ($p<0.05$) than other groups.

Conclusion*:* The effects of *Z. multiflora* on immune system of broilers is dose dependent and use of lower concentrations of this herbal showed immunomodulatory properties. Thus, it is recommended to use the low concerntations *of Zattariamultiflora* in order to increase the resistance of broilers against enteric and respiratory infections.

Keywords: *Zattariamultifolra* essence, Humoral immunity, Cellular immunity, Broilers

* Corresponding author. Tel: +98 23 33654215
hstaji@semnan.ac.ir