توهين يرقات ديدان الرئة Dictyocaulus filaria باستخدام اشعة الليزر المرئي . 2: دراسة تجريبية

سعدي احمد غناوي السامرائي و فاروق جمعة خليل المشهداني*
فرع الطب الباطني والوقائي البيطري – فرع الطفيليات
كلية الطب البيطري – جامعة بغداد

الخلاصة

اختيرت أربع جرع مختلفة لتوهين اليرقات الثالثة لديدان الرئة Dictyocaulus filaria باستخدام أشعة الليزر ذي القدرة 1 ملي واط والطول الموجي 632.8 نانوميتر والانبعاث الغازي المستمر (ليزر الهليوم – نيون) على وفق أوقات التعرض المستند على دراسة مختبريه سابقة وهي (2.5 ، 5، 10، 15) دقيقة .

أعطيت اليرقات المشعة بهذه المدد إلى أربعة مجاميع من الجداء كل مجموعة ضمت 5 جداء جرعت بجرعتين عن طريق الفم الأولي 1000 يرقة و الثانية بعد خمسة أسابيع من الأولى وبمقدار 2000 يرقة ، لكل جدي وتركت المجموعة الخامسة كسيطرة . واعتمدت معايير الأعراض الكلينيكية (السريرية) وتم أجراء الفحوص الدموية وحساب عدد اليرقات في البراز .

أظهرت النتائج إن جداء المجموعة الأولى قد تأثرت بجرعتي اليرقات المشعة لمدة (2.5) دقيقة اكثر من غيرها في المجاميع من خلال ارتفاع معدل التنفس وزيادة عدد الحمضات وظهور اليرقات في البراز مما قد يؤشر كفاءة توهين الجرع المعرضة للمدد (5، 10، 15) دقيقة لأشعة ليزر ليرقات D. filaria وسلامة استعمالها كلقاح .

* البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث

المقدمة

لقد نجح Jarret وجماعته (2،3) في إنتاج لقاح لديدان D. viviparus في الأبقار باستعمال الأشعة السينية (كاما) مما دفع الباحثين إلى إنتاج لقاح مماثل لديدان الرئة في الأغنام والماعز D. filaria في يوغسلافيا (4) .

وباستخدام طريقة تضعيف يرقات الطور الثالث بالتشعيع . انتج اللقاح في العراق من قبل جواد كاظم (1977) في مديرية قسم المختبرات والبحوث البيطرية (في حينه) . إن هذا اللقاح ساعد على اكتساب الحملان مقاومة عالية ضد جرع التحدي في الدراسات التجريبية (5 و 6) في العراق و في الهند (7) وقد توقف إنتاجه في العراق منذ اكثر من عقد رغم ما تشكله ديدان الرئة في الأغنام والماعز من أهميه اقتصادية (8).

إن المؤشرات المعتمدة لتقويم درجة اكتساب المناعة تشمل الأعراض السريرية و أوزان الجسم الحي ، أعداد اليرقات المطروحة في البراز ، عدد الحمضات في الدم ، وجود وشدة التغيرات العيانية المرضية في الرئات ، أعداد الديدان المكتشفة في الرئات ودرجة نضجها الجنسي وعدد الهلاكات في الحيوانات ان وجدت (4،9،10)

في الدراسة المختبرية (1) بلغت نسبة يرقات ديدان الرئة . D filaria المتحركة بعد تعريضها لأشعة ليزر الهليوم نيون لمدد 2.5،5،10،15 دقيقة هي 89.6% و 78.8% و 78% و 77.2% على التوالي بعد ثلاثة عشر يوم من التعرض مما يؤشر فعالية أشعة الليزر التوهينية على حيوية اليرقات الثالثة لهذه الديدان . لقد صممت هذه التجربة لدراسة حيوية وفعالية هذه اليرقات المشعه في جسم المضيف واستعملت فيها الجداء لهذا الغرض.

المواد وطرائق العمل

اختيرت أربع مدد (2.5، 5، 10، 15) دقيقة لتعريض اليرقات لديدان الرئة D. filaria إلى أشعة ليزر الهليوم- نيون *(Helium – Neon laser) ذي القدرة 1 ملي واط والطول الموجي (632.8) نانوميتر والانبعاث الغازي المستمر (Continuos emission) أعطيت اليرقات المشععة بمقدار (1000) يرقة ثالثة لكل حيوان في أربعة مجا ميع بواقع خمسة حيوانات لكل مجموعة عن طريق الفم (11) وتركت خمسة جداء بدون يرقات كمجموعة سيطرة . وبعد مرور خمسة أسابيع أعطيت المجاميع الأربعة جرعة أخرى من اليرقات المشععة قدرها (2000) يرقة لكل حيوان . وكما اجري الفحص السريري (12) ، والفحوص الدموية التي شملت حساب العدد الكلي لكريات الدم البيض والحمر (13) وعدد الحمضات (11) ، وحساب عدد اليرقات في البراز (10) فضلا عن إجراء الصفة التشريحية في الأسبوع الحادي عشر من بدء التجربة .

النتائج

تراوحت درجات حرارة الجسم في جميع الجداء قبل وبعد إعطاء اليرقات ما بين (39.4 – 40.2) م° ، وقد ارتفعت معدلات التنفس بشكل طفيف في الأسبوع الثاني من إعطاء جرعتي اليرقات لتعود إلى حدودها الطبيعية بعد ذلك باستثناء ثلاثة حيوانات من المجموعة الأولى حيث بلغت ما بين (52-58) في الدقيقة في الأسبوع الثالث و أظهرت سعالا جافا متقطعا بدأ

* موديل (132) والمصنع في شركة Spectra physics, U.S.A

بالأسبوع الثاني ، وكما سمعت هسة جافة استمرت حتى الأسبوع الرابع لتتحول إلى هسة رطبة بالتدريج . تراوحت معدلات أعداد كريات الدم الحمر طيلة التجربة وفي المجاميع الخمسة بين (10.62 ± 0.63 و 11.42 ± 0.93) 10X ^{6} خلية / ملم ^{3} من الدم ولم يسجل فرق ملحوظ فيما بينها ، وكذلك الحال في معدلات العدد الكلي لكريات الدم البيض فقد تراوحت بين 7.682 ± 0.762 و 9.631 ± 0.535) X 10 ^{3}خلية / ملم ^{3} في الدم . ويبين الجدول رقم (1) معدلات أعداد الحمضات / ملم ^{3} من الدم في حيوانات المجاميع الخمسة ، وقد سجلت زيادة في هذه المعدلات بعد إعطاء جرعتي اليرقات ولم تظهر في مجموعة السيطرة . اظهر اثنان من جداء المجموعة الأولى المشار أليها أعلاه اليرقات في البراز في الأسبوع الخامس من إعطاء الجرعة الأولى من اليرقات وبأعداد قليلة واستمر الطرح حتى الأسبوع الثامن حيث كانت المعدلات الأسبوعية لليرقات في برازهما (0.8 و 1.4 و 0.2) و (1.8 و 2.4 و 0.8) يرقة / غم للأسابيع الثلاثة على التوالي هذا ولم تلاحظ آفات عيانية على رئات أي من الماعز ولم يعثر على الديدان أو يرقات الطور الخامس فيها ، أظهرت الصفة التشريحية عدم وجود أي من الآفات المرضية المرئية في حيوانات المجاميع الخمسة .

جدول رقم (1) يبين أعداد الحمضات / ملم3 من الدم (المعدل ± معامل الخطأ القياسي) .

مجاميع التجربة	المجموعة الأولى	المجموعة الثانية	المجموعة الثالثة	المجموعة الرابعة	مجموعة السيطرة
O	6.7 ±156	2.3 ±185	4.6±120	0.6±195	1.8±140
1 ل 1 *	2.8±130	4.3±180	3.8±175	4.1±105	3.8±103
2	6.2±375	2.1±355	3.2±320	3.6±290	2.7±80
3	4.4±197	5.3±188	3.7±179	3.0±110	4.2±105
4	2.3±181	6.1±107	8.4±109	6.4±95	6.8±155
5	2.2±105	3.4±126	8.0±100	3.8±86	2.4±88
6 ل 2 **	3.7±105	2.0±149	3.4±123	3.7±121	6.3±109
7	7.6±395	8.8±332	18.6±305	5.2±288	7.4±120
8	5.3±200	4.2±197	4.3±166	5.3±147	3.8±110
9	4.8±165	5.5±165	2.2±134	4.0±156	2.5±116
10	6.6±135	3.7±130	2.5±125	2.6±110	2.2±105

* ل 1= جرعة اليرقات المشععة الأولى (1000 يرقة / حيوان)

** ل 2 = جرعة اليرقات المشععة الثانية بعد خمسة أسابيع (2000 يرقة / حيوان) .

المناقشة

اصبح معروفا إن الماعز اكثر استعدادا للخمج بديدان الرئة D. filaria في الأغنام واعتبرها (14) المضيف الخازن لهذه الديدان مما يجعلها مصدرا مهما في تلويث المراعي . تم اختيار الجداء لدراسة سلامة إعطاء اليرقات المشععة بليزر الهليوم – نيون وقدرتها على إحداث الخمج في المضيف الأكثر استعدادا بعد إن درست نتائج تأثير ستة مدد تعرض مختلفة لأشعة ليزر استنادا إلى معيار الحركة كدليل على حيوية اليرقات (1) ، حيث ثبطت حركتها بفترة اقل وكلما زادت مدة التعرض كانت دليلا على ضعفها وموتها . أن تفاعل أشعة الليزر مع الخلايا الحية قد يؤدي إلى العديد من التأثيرات غير الواضحة لحد الآن ، ومنها التأثير النوعي المحدد الشامل لجميع مستويات أنشطة الخلية الحية (15).

لم تحدث اليرقات المشععة بجرعتيها تأثيرا واضحا على درجات حرارة الجسم أو الشهية و أوزان الحيوانات في المجاميع الأربعة مقارنة بمجموعة السيطرة.لقد ارتفعت معدلات ترددات التنفس بشكل طفيف في الأسبوع الثاني بعد كل جرعة يرقات باستثناء ثلاثة حيوانات في المجموعة الأولى حيث كان الارتفاع ملحوظا في الأسبوع الثالث بعد الجرعة الأولى لينخفض تدريجيا في الأسبوع السادس ، وقد صاحبها سعال جاف وهسة (rales) ، وكما اظهر اثنان منها اليرقة الأولى لديدان الرئة D. filaria في البراز في الأسبوع الخامس وحتى الأسبوع الثامن منها ولقد ارتفعت معدلات أعداد الحمضات في الأسبوع الثاني من كل جرعة يرقات وفي المجاميع الأربعة مقارنة بمجموعة السيطرة ، مما يدل على اختراق اليرقات للغدد اللمفاوية المساريقية (7، 10، 11) في المجاميع لأربعة ، ووصول أعداد منها إلى الرئتين وبلوغها النضج الجنسي في بعض حيوانات المجموعة الأولى .

لم يلاحظ تغير ملموس في أعداد كريات الدم البيض أو الحمر حيث بقيت ضمن الحدود الطبيعية طيلة فترة التجربة وهذا يتفق مع ما وجده (4، 16) . إن عدم ظهور أي علامات أو أعراض جانبية على حيوانات التجربة يؤشر سلامة إعطاء اليرقات المشعة بالليزر بالطريقة والجرعة والفترة ليزر الهليوم – نيون ذي القدرة 1 ملي واط وبطول موجي 632.8 نانوميتر لمدد تعرض (5،10،15) دقيقة على توهين اليرقات من خلال قلة الأعراض السريرية التي أحدثتها في المجاميع الثلاث وتحفيزها لزيادة أعداد الحمضات في الدم وعدم قدرتها للوصول الى مرحلة النضوج الجنسي وأنتاج اليرقات . لقد ذكر (17) إن الزيادة الحاصلة في أعداد الحمضات تعتبر مؤشرا على حدوث الخمج . كما لاحظ (5،16) إن يرقات ديدان الرئة D. filaria الموهنة بأشعة كاما وبفترات تعرض مختلفة قد فشلت في الوصول إلى النضوج الجنسي .

References

1- Al-Mishhadani, F.J.K. and Al-Samarrae, S.A.G.(1999) Attenuation of Dictyocaulus filaria larvae by visible laser radiation 1- in vitro study . The Iraqi J. Vet. Med. 23 (2), 9-15.

2- Jarrett, W.F.H. Sharp, N.C.C. and Urquhart, G.M. (1958) A field trial of parasitic bronchitis vaccine. Vet. Rec. 70, 451-454.

3- Jarrett, W/F.H. ; McIntyre, W.I.M. ; Jennings, F.W. ; Sharp, N.C.C. and Urquhart, G.M. (1959) Immunological studies on Dictyocaulus viviparus infection in calves . Double vaccination with irradiated larvae. Am. J. Vet. Res. 20, 522-562.

4- Jovanovic, M. ; Sokolic, A. ; Cuperlovic, R. and Movesesijan, M. (1965) Immunization of sheep with irradiated larvae of Dictyocaulus filaria. Brit. Vet. J. 121, 119-130.

5- AL – Saadi , A.A.; AL- Samarrae S.A.G and AL-Taif K. I. (1984) Effect of antihelmintic treatment on the development of resistance in sheep vaccinated on

experimentally infected with Dictyocaulus filaria . Res . Vet .Sci . 36. 144-146 .

6- AL- Samarrae S.A.G., Hassan , S.A.K. and Latif B.M.A. (1999) The effect of two challenge doses of Dictyocaulucfilaria on the aquired immunity of sheep vaccinated with filiraq . Iraqi J. Vet . Med . 23,1,1-10

7- Sharma , R.L. (1994) Parasitic bronchitis in goats and possible use of Dictyocaulus filaria vaccine for its control , Vet . Parasitol . , 51 (3-4) 255-262 .

8- AL- Jobouri, K.H. and AL- Darraji.A.M. (1990) Incidence and pathology of parasitic pneumonia in Iraqi local goats . The Iraqi J. Vet . Med . 14, 99-109

9- Michel , J. F. and Sinclair , I.J.P. (1963) Host resistance to Dictyocaulus filaria infection . Proceedings , 70 (2) , 44.49 .

10- Soulsby , E. J. L. (1982) Helminth , Arthropods and Protozoa of domesticated animals , 7 th ed . Balliere , Tindall , London .

11- AL- Samarrae , S.A.G. (1975) Epidemiology of parasitic bronchitis in sheep . Ph . D. thesis University of Edinburgh .

12- Radostits , O.M., Blood , D.C., and Gay , C.C. (1997) Veterinary Medicine . 8 th ed . W.B. Saunders Co.

13- Coles , E.H. (1984) Veterinary clinical pathology Text book 3 rd ed. W. B. Saunders Co .
14- Berrag , B and Urquhart , G.M. (1996) Epidemiological aspects of lung worm infection of goats in Morocco . Vet. Parasit ; 61,81-85.
15- Golovine, S. (1992) . Applications guide for infra-red laser therapy into ALT and ALTIO . Auther , Research and development of laser therapy in clinical practice , Russian state , Medical University , Ist clinical and scientific conference , Moscow .
16- Sokolic, A., Jovonavic , M., Sofrenovic , D.,Cuperlovic , K. and Movseijan , M. (1965) . Vaccination against Dictyocaulus filaria larvae . Brit . Vet . J., 121 , 212-222 .
17- Wilson , G. L. (1970) The strength and duration of immunity to Dictyocaulus filaria infection in sheep and goats Res. Vet. Sci. , 11 (7) , 7-17 .

Attenuation of Dictyocaulus filaria larvae by visible Laser radiation : 2- In vivo study .

AL- S amarrae, S. A. G. and AL- Mishhadani, F. J. K.*
Dept. of Veterinary Internal & Preventive Medicine; and Dept. of Parasitology, College of Vet. Med. , University of Baghdad .

Summary

Attenuated 3rd stage larvae of Dictyocaulus filaria, by continuos emission of visible Helium- Neon laser of 1mW and a wave length of 632.8 nm for 2.5,5,10 and 15 minutes, were dosed twice orally to four groups of five kids each . The first dose contained 1000 larvae and after five weeks a second dose of 2000 larvae was given . A 5 th group of five kids was left as control .

Results showed that attenuation at 2.5 min. exposure was insufficient as indicated by the increase in respiratory rate, eosinophilia and shading of larvae in the feaces. The results indicated that attenuation of Dictyocaulus filaria larvae at (5, 10 , and 15) min. exposure to laser radiation were efficient and safe to be used as attenuated vaccine .

---

* **This research is part of Ph. D. Thesis .**