

متلازمة التهاب الكبد وموه التامور والتقيح بعالق الكبد المصاب

عماد جواد خماس - ليث ميخائيل حنا
فرع الأمراض والدواجن / كلية الطب البيطري - جامعة بغداد

الخلاصة

تم تحضير عالق الكبد المصاب والمعامل بالفورمالين وحقن الأفراخ بعمر (12, 12, 20) يوماً في العضلة أو تحت الجلد ، ثم عرضت الأفراخ لإختبار التحدي بحمة متلازمة التهاب الكبد وموه التامور ، أعطى عالق الكبد المحضر حماية كاملة ضد اختبار التحدي في جميع الأفراخ ولم تكن هناك أي علامات سريرية أو تغيرات مرضية في الأفراخ الملقحة .

المقدمة

إن إحداث المرض بواسطة حقن عالق الكبد المصاب بمتلازمة الكبد وموه التامور في الأفراخ ، وكذلك مشاهدة الأجسام الأشمالية في الخلايا الكبدية المصابة قد أكد إن العامل المسبب هو حمة وان لها ألفة (tropism) نحو الكبد مسببة نخر الكبد وتكوين أجسام أشمالية داخل أنويه الخلايا الكبدية المصابة (5) .

إن للفورمالين استعمال واسع لإنتاج اللقاحات المبطلّة (inactivated vaccines) المستعملة للسيطرة على الأمراض ولكن يجب استعمال أقل تركيز منه يؤثر على الحمه لكي لا تتعطل قابلية الحمه الأنتيجينية (6) . تم استخدام عالق الكبد المصاب المعامل بالفورمالين كلقاح

ضد المتلازمة وذلك عن طريق الحقن تحت الجلد وقد أعطى نتائج جيدة كما إن التلقيح عند حدوث المرض مباشرة قد أعطى نتائج إيجابية (1) ، (2) . كما استعمل Ahmad وجماعته (3) لقاحاً مماثلاً وباستعمال الفورمالين أو مادة (beta propiolactone) تحت الجلد وقد أعطى اللقاح حماية جيدة تحت الظروف المختبرية والحقلية . اللقاحات المبطللة هي لقاحات ميتة أي إن قابليتها على الإصابة قد تحطمت مع المحافظة على قابليتها المناعية (7) تكون اللقاحات الميتة آمنة إلا إن الحمة لا تستطيع التكرار داخل الجسم ويجب أن تعطى عن طريق الحقن (8) .

المواد وطرق العمل

تم تربية (400) فرخ لحم عمر يوم واحد تم جلبها من مفقس الشركة العراقية لإنتاج أصول الدواجن في سامراء ونقلت إلى وحدة تجارب فرع الأمراض والدواجن التي كانت مهيأة لاستقبال الأفراخ من حيث التعقيم واستعمال نشارة الخشب كفرشه والحفاظ على الحرارة والإنارة وقد تم إعطاء الأفراخ العلف الخاص بأفراخ لحم تم جلبه من معمل 17 تموز التابع لمركز إباء للأبحاث الزراعية .

وقد تم تلقيح الأفراخ ضد مرض نيوكاسل بعمر 9 و 19 بواسطة ماء الشرب كما استعمل لقاحات الكمبورو من شركة الكندي لإنتاج اللقاحات البيطرية وبمعيار 50×10^5 palque – forming units / ml حيث أعطيت بواسطة ماء الشرب وبجرعة 10^4 pfu . تم تحضير حمة متلازمة التهاب الكبد وموه التامور حسب طريقة Ahmad وجماعته (1) . أما معايرة الحمة فقد أجريت حسب طريقة Villegas and (9) Purchase وقد تم تحضير لقاح متلازمة التهاب الكبد وموه التامور من عالق الكبد قبل 24 ساعة من التلقيح وذلك حسب طريقة (3) بعد تحضير اللقاح اجري اختبار

العقم sterility test وذلك بزرع عينات من اللقاح على وسط اكار المكوني Oxoid ووسط اكار الدم Difco وعلى وسط الأكار المغذي Biolife، ثم وضعت الأطباق الزرعية في الحاضنة بدرجة (37 م) لمدة 18-24 ساعة (1). ولإجراء اختبار الأمان فقد تم حقن (10) أفراخ من أفراخ التجربة بعمر (8) أيام باللقاح المحضر وبجرعة (1) مل لكل فرخ واستخدمت خمسة أفراخ لغرض الحقن داخل العضلة وخمسة أفراخ لغرض الحقن تحت الجلد ، بعد ذلك تم مراقبة الأفراخ لملاحظة أي علامات سريرية او هلاكات (1).

تصميم التجربة :-

تم تقسيم الأفراخ في عمر (7) أيام وبصورة عشوائية إلى (6) مجا ميع لكل مجموعة (50) فرخاً وكما يلي :-

المجموعة الأولى : تم حقن هذه المجموعة باللقاح المحضر وذلك في عمر (12) يوماً داخل العضلة وبجرعة (0.2) مل لكل فرخ .

المجموعة الثانية : لقحت بلقاح الكمبورو ثلاث مرات بعمر (7, 14, 21) يوماً بواسطة ماء الشرب ، وفي عمر (12) يوماً تم حقن اللقاح المحضر داخل العضلة وبجرعة (0.2) مل لكل فرخ .

المجموعة الثالثة : حقنت تحت الجلد بعمر (12) يوماً وبجرعة (0.5) مل لكل فرخ .

المجموعة الرابعة : لقحت بلقاح الكمبورو ثلاث مرات بعمر (7, 14, 21) يوماً بواسطة ماء الشرب ، وحقنت تحت الجلد باللقاح المحضر بعمر (12) يوماً وبجرعة (0.5) مل لكل فرخ .

المجموعة الخامسة : حقنت باللقاح المحضر داخل العضلة مرتين وذلك بعمر (12) وعمر (20) يوماً وبجرعة (0.2) مل لكل فرخ .

مجموعة السيطرة: تركت هذه المجموعة دون تلقيح .
وفي عمر (25) يوما تم إجراء اختبار التحدي على المجاميع كافة وذلك بحقن 0.2 مل لكل فرخ من عالق الكبد المحضر سابقا بعد تخفيفه بالمحلول الملحي الوظيفي المعقم لإعطاء (1000) جرعة مميتة إلى 50% من الأفراخ 50 LD 1000 ، علما إن الجرعة المميتة إلى 50% من الأفراخ للعالق الأصلي كانت $10^{4.6}$ لكل مل $10^{4.6}$ CLD 50 . لقد أجريت طريقة التلقيح ضد متلازمة الكبد وموه التامور واختبار التحدي حسب ما ذكره (3) مع بعض التحويلات البسيطة .

بعد ذلك مراقبة الأفراخ لمدة (8) أيام وذلك بملاحظة العلامات السريرية الهلاكات وتسجيل الآفات العيانية للأفراخ الهالكة وكذلك اخذ عينات من الكبد وجراب فابريشيا من مجموعة السيطرة والمجاميع الملقحة بعد اختبار التحدي لغرض الفحص النسيجي ، وتم ملاحظة الأفراخ إلى عمر (45) يوما .
الفحص النسيجي :

أخذت عينات من الكبد وجراب فابريشيا ووضعت في محلول الفورمالين تركيز 10% ثم مررت في محاليل خاصة لهذا الغرض وحسب الطريقة المعتادة ، وطمرت القطع النسيجية في قوالب شمعية وقطعت في جهاز النقطيع إلى شرائح سمك (5) مايكرون وتم صبغها بصبغة الهيماتوكسلين والأيوسين .

النتائج

إن نتائج اختبار العقم قد أظهرت عدم وجود أي نمو بكتيري على الأوساط الزرعية التي تم زرعها بعينات من عالق الكبد المعامل بالفورمالين .
أما نتائج اختبار الأمان فبعد حقن عشرة أفراخ باللقاح المحضر لم تلاحظ أي علامات سريرية عليها واستمرت الأفراخ بنشاطها ولم تحدث هلاكات فيها

وقد تم قتل الأفراخ في اليوم العاشر بعد الحقن حيث لم يلاحظ وجود أي آفات عيانية بعد تشريح الأفراخ .
العلامات السريرية :

بالنسبة للمجاميع الملقحة ضد متلازمة التهاب الكبد وموه التامور لم تظهر أي علامات سريرية على الأفراخ بعد حقنها باللقاح المحضر حيث لوحظ استمرارها بتناول العلف والماء بصورة اعتيادية ، أما بعد إجراء اختبار التحدي بحمة متلازمة موه التامور فلم يلاحظ على الأفراخ الملقحة أي علامات سريرية عدا خمول بسيط ظهر على (3-4) أفراخ من كل مجموعة في اليوم الثالث بعد التحدي ثم استعادت الأفراخ نشاطها ، ولم تحدث أي هلاكات في أفراخ المجاميع الملقحة (جدول 1) .

أما مجموعة السيطرة فبعد إجراء اختبار التحدي حدثت الهلاكات في اليوم الثاني وبعض الأفراخ ظهر عليها إسهال مخاطي اصفر مع خمول شديد قبل الهلاك ، وقد هلك في اليوم الثاني بعد الخمج (26) فرخاً ، وفي اليوم الثالث (13) فرخاً ، وفي اليوم الرابع هلك فرخان وفي اليوم الخامس بعد التحدي هلك فرخ واحد (جدول 1).

جدول رقم 1 الهلاكات بعد إجراء اختبار التحدي

النسبة المئوية للهلاكات	مجموع الهلاكات / العدد الكلي للهلاكات	المدة بعد التحدي (يوم)					المجموعة	
		السادس	الخامس	الرابع	الثالث	الثاني		الأول
0	50/0	-	-	-	-	-	-	م 1
0	50/0	-	-	-	-	-	-	م 2
0	50/0	-	-	-	-	-	-	م 3
0	50/0	-	-	-	-	-	-	م 4
0	50/0	-	-	-	-	-	-	م 5
%84	50/42	-	1	2	13	26	-	مجموعة السيطرة

*لقاح متلازمة موه التامور داخل العضلة - (12) يوم .

** لقاح كمبورو ثلاث مرات + لقاح المتلازمة داخل العضلة - (12) يوم .

*** لقاح المتلازمة تحت الجلد - (12) يوم .

لقاح كمبورو ثلاث مرات + لقاح المتلازمة تحت الجلد - (12) يوم .

لقاح المتلازمة داخل العضلة - (12) يوم ، (20) يوم .

مجموعة السيطرة :- غير ملقحة .

الآفات العيانية :-

بالنسبة لأفراخ المجاميع الملقحة فقد تم قتل فرخين من كل مجموعة يوميا بصورة عشوائية ولمدة (8) أيام بعد إجراء اختبار التحدي بعدها تم مراقبة الأفراخ إلى عمر (45) ولوحظ خلو الأعضاء الداخلية للأفراخ التي تم

تشریحها من أي آفات عيانية أما أفراخ مجموعة السيطرة فقد لوحظ على الأفراخ الهالكة في اليوم الثاني بعد التحدي تجمع سائل اصفر - رائق في كيس التامور مع وجود نقط نزفية على سطح القلب ، الكبد محتقن جدا ومتضخم مع وجود نقط نزفية كثيرة منتشرة على سطحه والكلية محتقنة ومتضخمة مع وجود بقع نزفية على سطحها وتوسع النبيبات الكلوية ، أما الهلاكات في اليوم الثالث بعد التحدي فقد لوحظ عليها بعد تشریحها وجود السائل في كيس التامور بكميات كبيرة تقدر بحوالي (6) مل ، أما الكبد فلوحظ عليه الاصفرار وانتشار النقط النزفية على سطحه وبكثرة أما الكلية فأصبحت شاحبة مع وجود بقع نزفية على سطحها ، ولوحظ أيضا شحوب الطحال وضمور جراب فابريشيا .

الآفات النسيجية :

عند فحص المقاطع النسيجية للكبد وجراب فابريشيا لأفراخ المجاميع الملقحة لم تلاحظ أي تغيرات نسيجية فيها عدا بعض الحالات في جراب فابريشيا حيث لوحظ وجود خبز بسيط بين الجريبات للمفاوية . أما مقاطع الكبد لأفراخ مجموعة السيطرة فلوحظ إن الخلايا الكبدية قد فقدت ترتيبها الشعاعي المعتاد وكذلك انتفاخ الخلايا الكبدية وتفجى Vacuolation الساييتوبلازم بسبب وجود التنكس الدهني Fatty degeneration مع وجود مناطق من التخر والاحتقان والنزف .

كذلك لوحظ وجود الأجسام الإشمالية النواتية القعدة في انويه الخلايا الكبدية المتكسة وقد لوحظ إن الأجسام الأشمالية تملئ النواة بأكملها وذلك في جميع الأفراخ الهالكة . أما جراب فابريشيا فقد لوحظ وجود نفاذ للخلايا للمفاوية في الجريبات للمفاوية وخاصة في منطقة اللب مع وجود الخبز خاصة بين الجريبات للمفاوية .

المناقشة

إن نتائج هذه الدراسة أظهرت بأن لقاح عالق الكبد المصاب المعامل بالفورمالين قد أعطى حماية بنسبة (100%) للمجاميع الملقحة كافة ، في حين كانت نسبة الهلاكات في مجموعة السيطرة غير الملقحة هي 84% بعد إجراء اختبار التحدي بحمة متلازمة التهاب الكبد وموه التامور ، مما يشير إلى كفاءة اللقاح في حماية الأفراخ من الإصابة بالمرض ، وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره Ahmad وجماعته (3) حيث أشاروا إلى إن لقاح عالق الكبد المعامل الفورمالين قد أعطى حماية 100% ضد جرعة التحدي العالية بحمة متلازمة التهاب الكبد وموه التامور وكانت نسبة الهلاكات في المجموعة غير الملقحة هي 90% .

لقد استخدم هذا الباحث طريقة التلقيح بالحقن تحت الجلد بجرعة 0.5 مل لكل فرخ ، وفي دراستنا تم استخدام نفس الطريقة إضافة إلى التلقيح بالحقن داخل العضلة وجرعة 0.2 مل لكل فرخ وقد أعطت حماية 100% للأفراخ ومثابها للحقن تحت الجلد بجرعة 0.5 مل لكل فرخ ، وبذلك يمكن تحضير كميات أقل من عالق الكبد بالنسبة للحقن داخل العضلة مع جهد أقل عند الحقن لقد تم اختيار تركيز 0.1% من الفورمالين لإخمال الحمة حسب ما ذكره Ahmad وجماعته (3) حيث وجدوا إن استخدام تركيز 0.1% يحافظ على خواص الحمة المناعية ويجعلها غير مرضية Apathogenic بينما وجدوا إن استخدام تركيز 0.5% يحطم قابلية الحمة المناعية نتائج الدراسة المختبرية على اللقاح أظهرت إن اللقاح خالي من الملوثات البكتيرية وأنه أمين بعد حقنه للأفراخ ، حيث لم تظهر أي علامات سريرية أو آفات عيانية بعد حقن الأفراخ وهذا يتفق مع النتائج التي توصل لها (1) تم اختيار فحص

التحدي كميّاس أساسي لإختبار فعالية Efficacy اللقاح المحضر حيث ذكر Fenner و جماعته (7) بأن مقاومة التحدي سواء كان طبيعي أو تجريبي هو المقياس العلمي المهم لإختبار فعالية أي لقاح ، وقد تم في هذه الدراسة إجراء اختبار التحدي بحمة متلازمة موه التامور بمقدار 1000 جرعة مميتة لـ 50% من الأفراخ 50 LD 1000 حيث لم تظهر أي علامات سريرية أو هلاكات في المجاميع الملقحة مما يدل على كفاءة اللقاح المستخدم في توفير الحماية الكافية للأفراخ ضد اختبار التحدي لقد وجد بأن هناك حماية متصالبة Cross protection بين عزلات حمة متلازمة التهاب الكبد وموه التامور من خلال اختبارات التحدي (3) ولكن هناك باحثون آخرون أشاروا إلى عدم وجود تصالب مناعي بين الأنماط المصلية لحمة الأدينو (10) وظهر أيضا إن التلقيح مرة واحدة بلقاح متلازمة التهاب الكبد وموه التامور عن طريقة الحقن داخل العضلة بجرعة 0.2 مل بعمر (12) يوما قد أعطى نفس نتائج التلقيح مرتين داخل العضلة بجرعة 0.2 مل و بعمر (12، 20) يوما وذلك بعد إجراء اختبار التحدي ومشابهة أيضا للحقن تحت الجلد بعمر (12) يوما وبجرعة 0.5 مل لقد هلكت أفراخ مجموعة السيطرة في اليوم الثاني بعد إجراء اختبار التحدي بصورة مفاجئة دون علامات سريرية مميزة عدا الخمول قبل الهلاك ، وعند تشريح الأفراخ الهالكة وجدت الآفات العيانية المميزة بمتلازمة التهاب الكبد وموه التامور / أما الفحص النسيجي فقد اظهر عند فحص مقاطع الكبد لأفراخ مجموعة السيطرة وجود تنكس الخلايا الكبدية ووجود فجوات داخل الساييتوبلازم مع وجود الأجسام الأشمالية القعدة داخل انويه الخلايا الكبدية المتكسة ووجود مناطق من الاحتقان والنزف والتخر في نسيج الكبد أما جراب فابريشيا فقد لوحظ وجود النفاذ للمفاوي في الجريبات للمفاوية وخاصة في منطقة اللب إن مثل هذه النتائج تنفق مع ما وجدته Al- Janaby وجماعته (4) . أما عند فحص المقاطع النسيجية لأفراخ المجاميع الملقحة فلم يلاحظ وجود أي تغيرات نسيجية في الكبد وجراب

فابريشيا ، وهذا يدل على إن اللقاح قد أعطى الحماية الجيدة ولم تحدث تغيرات نسيجية بعد إجراء اختبار التحدي . وقد تم مراقبة أفراخ المجاميع الملقحة لغاية (45) يوماً ولم تظهر أي علامات سريرية أو هلاكات ، كذلك لم تلاحظ أي تغيرات مرضية عيانية عند اخذ عدد من الأفراخ عشوائياً من كل مجموعة ولأيام مختلفة ونشريحها ويمكن القول إن لقاح متلازمة التهاب الكبد وموه التامور المحضر في هذه الدراسة هو لقاح ذو كفاءة عالية ويعطي الحماية الجيدة ضد الإصابة الجيدة بمتلازمة التهاب الكبد موه التامور ، وهو لقاح اقتصادي حيث لا يحتاج في تحضيره إلى مواد معقدة أو مكلفة و أنه أمين بعد حقنه للأفراخ حيث لا يسبب أي علامات سريرية أو تغيرات مرضية .

REFERENCES

- 1-Afzal, M. and Ahmad, I. (1990) Efficacy of an inactivated vaccine against hydropericardium syndrome in broilers Vet. Rec. 126, 59-60 .
- 2-Afzal, M. ; Munner, R. and Stein, G (1991) Studies on the etiology of hydropericardium syndrome (Angara disease) in broilers . Vet. Rec. 28,591-593 .
- 3-Ahmad, I. ; Malik , M. ; Iqbal, K and Nqz, S. (1990) Efficacy of formalinized liver- organ- vaccine against Angara disease in broilers . Veterinarski Archiv. 60, 131-138.
- 4-Al- Janaby , S.Y., T.A. Aziz and E. J. Khamas (1998) Hydropericardium Syndrome in Broilers I- Field and Experimental Studies. The Veterinarian Vol(8) , No (1) PP 83-88 .
- 5-Anjum, A.D., Sabri, M.A. and Iqbal, Z.(1989) Hydropericarditis syndrome in broilers chickens in Pakistan . Vet. Rec. 124, 247-248 .
- 6-Buxton, A and Fraser, G. (1977) Animal microbiology . Volume 2 , Blackwell scientific publications PP. 460, 725-735 .
- 7-Fenner, F.; Mcauslan , B.R.; Mims , C.A.; Sambrook, J. and white, D. (1974) The biology of animal viruses,

2nd edit. Academic press, New York and London . PP .
191-192, 551-555 .

8-Mims, C.A. and White, D.D. (1984) Viral pathogenesis and immunology . Blackwell scientific publications, London . PP 261-262 .

9-Villegas, P. and Purchase, H.G. (1980) Titration of biological suspensions . in : Isolation and identification of avian pathogens 2nd edit. Edited by Hitchner, S.H.; Domermuth, C.H.; Purchase, H.G. and William, J.E. published by the Am. Asso. Of avian pathologists PP. 124-128 .

10-Winterfield, R.W., Fadly, A.M. and Hoerr, F.J. (1977) Immunization of chickens against adenovirus infection . Poult . Sci. 56, 1481-1486 .

HYDROPERICARDIUM HEPATITIS SYNDROME AND VACCINATION WITH INFECTED LIVER EXTRACT

Emad J. Khamas and Laith M. Hana
Dept. Pathology and Poultry , College of Veterinary
Medicine,
Baghdad University

Summary

The experiment was carried out to evaluate a killed vaccine of HHS prepared from liver extract treated with (0.1%) formalin . The vaccine was injected Sc. Or. im. At (12) or (12,20) days old broilers . At age of 25 days, chicks were challenged with HHS liver extract . The vaccinated chicks showed full protection with no clinical signs or pathological changes .