

تأثير جرعتي تحد مختلفتين من ديدان الرئة *Dictyocaulus filaria* على المناعة المكتسبة في الاغنام الملقحة بلقاح " Filiraq " .

سعدى احمد غناوي السامرائي و سهير عبد القادر حسن * و بهاء محمد عبد اللطيف
فرع الطب الباطني والوقائي ، كلية الطب البيطري - جامعة بغداد .

الخلاصة

استخدمت لاغراض البحث اربع مجاميع لدراسة تأثير الاصابة التجريبية بجرعتين مختلفتين من ديدان الرئة *Dictyocaulus filaria* (100 , 300 يرقة ثالثة / كغم من وزن الجسم) على المناعة المكتسبة من لقاح ديدان الرئة المشع " Filiraq " . تم تسجيل ومتابعة العلامات السريرية واستجابة خلايا الدم الحمضة وصورة الدم ومعرفة اعداد اليرقات المطروحة في البراز والتغيرات المرضية العيانية في الرئات والديدان المكتشفة فيها اظهرت النتائج بأن اعطاء جرعة التحدي العالية (300 يرقة ثالثة / كغم) حالت دون ظهور المقاومة المتوقعة من اعطاء اللقاح ، في حين اكتسبت المجموعة الملقحة الاخرى مقاومة جيدة ضد جرعة التحدي المتوسطة (100 يرقة ثالثة / كغم) مقارنة مع المجاميع الاخرى .

المقدمة

تسبب الاصابة بديدان الرئة *D. filaria* التهاب القصبات الطفيلي في الاغنام وتشكل اعلى نسبة من الامراض الطفيلية في العراق (1) . وقد اجريت العديد من الدراسات حول اللقاح (Filiraq) المستخدم لتقليل الخسائر الاقتصادية التي تسببها الاصابة (2،3،4) .

لقد اوصى الباحث (5) بأن كمية الإشعاع الأفضل لتشعيع يرقات الطور الثالث هي 50 كيلوراد . وكان الباحث (3) قد اثبت ان لقاح " Filiraq " قد ادى الى تقليل اعداد الديدان المكتشفة في الرئتين وعرقلة نمو ونضوج هذه الديدان كما ساعد في تخفيف الاعراض السريرية ومنع او تقليل ظهور اليرقات في البراز . اما الباحث (2) فقد اشار الى اكتساب مجموعة الاغنام الملقحة مقاومة عالية ضد جرعة التحدي البالغة 100 يرقة / كغم من وزن الجسم .

صمم هذا البحث لدراسة مقاومة الحيوانات الملقحة بلقاح ديدان الرئة المشع "Filiraq" عند تعريضها لجرعة عالية من يرقات الطور الثالث كما هو متوقع ان يحدث في موسم الامطار او في مناطق الرعي قرب الانهار والاهوار .

* البحث مستل من اطروحة ماجستير للباحث الثاني .

المواد وطرق العمل

اجريت الدراسة على 26 حمل عواسي مضرب بعمر 4 - 6 أشهر خالية من الإصابات الطفيلية . قسمت الحملان الى اربع مجاميع ، ضمت المجموعة الاولى والثانية سبعة حملان اما الثالثة والرابعة فقد ضمت ستة حملان لكل منها . اعطيت المجموعتان الاولى والثالثة لقاح ديدان الرئة المشع "Filiraq" بجرعتين أذ احتوت الجرعة الاولى على 1000 يرقة ثالثة وبعد 30 يوما اعطيت الجرعة الثانية والحوية على 2000 يرقة ثالثة لكل حيوان . وبعد مرور 37 يوما اعطيت المجموعتان الاولى والثالثة جرعتي التحدي والتي تكونت من 300 يرقة و 100 يرقة طبيعية من الطور الثالث / كغم من وزن الجسم على التوالي وتركت المجموعتين الثانية والرابعة بدون لقاح في حين اعطيت مايوازي عدد اليرقات الطبيعية التي اعطيت للمجموعة الاولى والثالثة واعتبرتا مجموعتي سيطرة غير ملقحتين (جدول رقم 1)

ثبتت الاعراض السريرية ودرجة حرارة الجسم والوزن بشكل دوري واجريت الفحوصات الدموية التي شملت حساب العدد الكلي لكريات الدم الحمراء ، حجم الخلايا المرصوصة ، كمية خضاب الدم ، العدد الكلي لخلايا الدم البيضاء حسب طريقة الباحث (6) والعدد الكلي لخلايا الدم الحمضة حسب طريقة الباحث (7) .

اما الفحوصات الطفيلية فقد شملت حساب عدد اليرقات في البراز باستخدام طريقة بيرمان ، حساب عدد الديدان المشخصة في الرئتين حيث عزلت الى ذكور واناث ناضجة وغير ناضجة حسب طريقة الباحث (8) . كما ثبتت التغيرات المرضية العيانية في الرئتين بعد الذبح والذي تم بعد 40 - 45 يوما من اعطاء جرعتي التحدي والاصابة للمجاميع الاربعة بأعتماد طريقة السامرائي (10) . واستخدام اختبار T واختبار F في تحليل النتائج كما ذكرها الباحثان (18) .

النتائج

اظهرت حملان المجموعة الاولى (الملقحة) اعراض تنفسية واضحة بعد اعطائها جرعة التحدي . وكذلك ظهرت تلك الاعراض على حملان المجموعة الثانية بعد اعطائها الاصابة وقد تمثلت بفقدان الشهية وافرازات انفية مخاطية وسعال متكرر مع صعوبة في التنفس وهسة رطبة تحولت الى جافة . اما المجموعة الثالثة (الملقحة) فلم تلاحظ الاعراض عليها بشكل واضح بعد اعطاء جرعة التحدي اذ

اقتصرت على الافرزات الانفية المصلية . وفي المجموعة الرابعة ظهرت الاعراض التنفسية بعد اعطائها الاصابة ، وقد حصلت زيادة ملحوظة في معدل سرعة التنفس للمجاميع الاربعة وكانت على اشدها في المجموعة الثانية تلتها الرابعة ثم الاولى فالثالثة . ولم يلاحظ أي اختلاف معنوي في معدلات درجات الحرارة في حيوانات المجاميع الاربعة طيلة فترة الدراسة .

ان المجموعتين الاولى والثالثة اظهرتا تباطؤ في الزيادة المكتسبة للوزن بعد اعطاء كل من جرعتي اللقاح اما بعد اعطاء جرعة التحدي لهما فقد حصل اكتساب ضئيل في معدل اوزانها . اما حملان المجموعة الثانية فقد حصل انخفاض ملحوظ من الناحية الاحصائية ($p < 0.05$) بعد اعطاء الاصابة مقارنة مع المجموعة الاولى ، كذلك حصل انخفاض في معدل وزن حملان المجموعة الرابعة لكنه لم يكن مهم احصائيا مقارنة مع المجموعة الثالثة .

لقد كانت التغيرات المرضية العيانية (بعد الذبح) شديدة جدا في رئات حملان المجموعة الثانية تلتها الاولى فالاربعة ، اما الثالثة فقد كانت التغيرات قليلة جدا اذ احتفظت غالبية مناطق الرئة بنسيجها الطبيعي . شملت التغيرات المرضية وجود الاحتقان والخزب والنفخ والتصلد الرئوي كذلك وجود بؤر نخرية في الفص الحجابي غالبا وبقطر (2-7 ملم) كان عددها اكبر في المجموعة الثانية تلتها الرابعة فقط .

لم يطرأ أي اختلاف ملحوظ في معدل اعداد كريات الدم الحمراء في المجاميع الاربعة ، كذلك الحال بالنسبة لحجم الخلايا المرصوصة وكميات خضاب الدم . في حين لوحظت زيادة بسيطة في العدد الكلي لخلايا الدم البيضاء بعد اعطاء الجرعة الاولى من اللقاح وثانية بعد اعطاء الجرعة الثانية من اللقاح ، اما بعد اعطاء جرعة التحدي فقد حصلت زيادة ملحوظة (12.6×10^3 خلية / ملم³ من الدم) مقارنة مع معدلاتها قبل التجربة . لقد بلغت معدلات هذه الخلايا في المجموعتين الثانية والرابعة بعد اعطائها الاصابة 14.2×10^3 و 13.3×10^3 ملم³ من الدم على التوالي . سجلت زيادة ملحوظة في عدد الخلايا الحمضة في المجموعتين الاولى والثالثة بعد كل جرعة لقاح وكذلك بعد اعطاء جرعة التحدي للمجموعتين ايضا . وكذلك بعد الاصابة للمجموعتين الثانية والرابعة حيث تجاوزت اعدادها 2000 خلية / ملم³ من الدم (شكل رقم 1 و 2) .

جدول رقم (1) : اعداد يرقات جرعة التحدي والخمج والديدان المشخصة في الرنات وظهور اليرقات في البراز.

المجامع	رغم الحيوان	عدد يرقات التحدي المعطاة له	عدد الديدان المشخصة	يوم ظهور اليرقات بعد التحدي	أعلى معدل يرقات/غم براز في كل حمل
المجموعة الأولى ملقحة وجرعة جرعة التحدي (100 يرقة من الطور الثالث/كغم).	4711	14400	45	31	10.330
	4622	15000	5	--	--
	1	13350	5	--	--
	4632	12000	75	37	9.333
	4626	13050	485	34	71.666
	4628	13200	20	--	--
	4714	15750	290	29	88.666
	--	13821.428	132.142	--	44.998
	4625	12150	495	29	100.666
	4621	12150	30	34	7.333
المجموعة الثانية ملقحة فقط (300 يرقة من الطور الثالث/كغم). (مجموعة سيطرة) (300 يرقة من الطور الثالث/كغم).	2	14400	200	32	74.
	4715	13050	60	31	22.666
	4726	11700	75	31	15.333
	4156	12450	30	34	2.666
	4160	13350	47	34	136
	--	12750	133.857	--	51.237
	4633	3475	76	--	--
	4729	3450	9	--	--
	4727	3900	5	--	--
	4153	4150	18	--	--
المجموعة الثالثة ملقحة وجرعة التحدي (100 يرقة من الطور الثالث/كغم).	4158	4000	39	--	--
	4155	3225	6	--	--
	--	3700	25.5	--	--
	4716	3800	69	35	13
	4713	3900	170	29	20
	4712	3725	40	31	12.333
	4730	3875	12	--	--
	4154	3625	38	34	10.666
	4159	3950	48	37	11.666
	--	3812.5	62.833	--	12.944

لم تلاحظ اليرقات في براز حملان المجموعتين الملقحتين الا بعد اعطاهم جرعة التحدي وكذلك الحال في المجموعتين غير الملقحتين (السيطرة) الا بعد اعطاء الاصابة . لقد ظهرت اليرقات في اربعة حملان من المجموعة الاولى ، في حين اظهرت جميع حملان المجموعة الثانية اليرقات في البراز وبلغ اعلى معدل لها في اليوم 38 بعد الاصابة (41.6 يرقة / غم من البراز) . وفي الوقت الذي لم تظهر فيه اليرقات في أي من حملان المجموعة الثالثة بلغ معدل عدد اليرقات في براز حملان المجموعة الرابعة 10.6 يرقة / غم براز في اليوم 38 من الاصابة . وبعد ذبح الحيوانات بلغت اعداد الديدان المشخصة في الرئات وعلى التوالي 133.8 ، 132.1 ، 62.8 ، 25.5 . اما معدل اطوال الاناث في المجاميع الاربعة وعلى التوالي فكانت 30.2 ملم ، 37.7 ملم ، 22.9 ملم و 33.4 ملم ولوحظ وجود فرق مهم احصائيا بين المجموعتين الاولى والثانية وكذلك بين المجموعتين الاولى والثالثة وبين الثالثة والرابعة (جدول رقم 1) .

المناقشة

استخدم عدد من الباحثين لقاح ديدان الرئة المشع " filiraq " في العراق لتمنيع الاغنام ضد الاصابة بديدان الرئة (5،4،3،2) D. filaria . وفي محاولة للتعرف على تأثير اعطاء جرعة تحدي عالية من يرقات ديدان الرئة D. filaria الى حملان سبق وان لقحت بهذا اللقاح ، تم اختيار جرعة 300 يرقة من الطور الثالث / كغم من وزن الجسم ، أي ثلاثة اضعاف جرعة التحدي المستخدمة من قبل الباحثين (10 ، 1 ، 2 ، 3 ، 9) للكشف عن المناعة المكتسبة في الحملان نتيجة اللقاح او الاصابة الاولى بـ 50 يرقة / كغم من وزن الجسم ، وقد تمت مقارنتها مع مجموعة حملان (المجموعة الثالثة) اعطيت جرعة مماثلة لما استخدمه الباحثان (2،3) وكذلك مع مجموعتي سيطرة غير ملقحة .

ان المؤشرات التي ذكرها الباحثون (10،12،16،17) حول المقاومة المكتسبة ضد ديدان الرئة تتجسد في فشل اليرقات في تثبيت نفسها في الرئتين وان اليرقات التي تصل الرئتين يحصل لها تثبيط في النمو وتبقى بالطور اليرقي الخامس او انها تطرد او تتحطم قبل ان تتضج ، وهذا ينعكس على ظهور الاعراض السريرية وشدتها ودرجة وشدة التغيرات المرضية وظهور اليرقات في البراز واعدادها واعداد الديدان المكتشفة في الرئات واطوالها ودرجة نضجها ونسبة الهلاكات في الحيوانات المصابة والزيادة في اعداد خلايا الدم الحمضة .

لقد ادى اعطاء جرعة التحدي العالية لحملان المجموعة الاولى الى عدم ظهور المقاومة المتوقعة في اعطاء اللقاح وقد تمثل ذلك في ظهور الاعراض السريرية ووضوح وانتشار التغيرات المرضية المرئية في الرنتيين وظهور البرقات وباعداد عالية في البراز واكتشاف اعداد عالية من الديدان في رناتها . ان نتائج هذه المجموعة جاءت اشد وضوحا مما توصل اليه الباحث (13) حيث لاحظ ثبوت يرقات جرعة التحدي في خمس من اصل عشرة حملان كانت ملقحة ببرقات مشععة في D. filaria مما دل على فشل اللقاح في اعطاء المقاومة الكافية لمقاومة هذا المستوى من الاصابة . لقد بلغ عدد الديدان المكتشفة في رنات حملان المجموعة الثانية (غير الملقحة) 937 ، وكان الباحثون (9، 12، 15، 16) قد اشاروا الى ان المقاومة المكتسبة ضد ديدان الرنة تظهر في صورة فشل البرقات في تثبيت نفسها في الرنتيين وقد ظهر ذلك واضحا في المجموعة الثالثة حيث بلغ عدد الديدان في رنات حملانها 153 مقارنة مع 377 في المجموعة الرابعة (غير الملقحة) .

المتوسطة (100 يرقة / كغم) حيث عمل اللقاح على تقليل الاعراض السريرية اذ اقتصر على الافرازات الانفية المصلية والتي اختفت تدريجيا . وكذلك ساعد اللقاح في تقليل شدة التغيرات المرضية في الرنتيين وعدم وضوحها وعدم ظهور البرقات في براز حملانها وقلّة عدد الديدان المكتشفة في الرنتيين بالإضافة الى الزيادة في معدل عدد الخلايا الحمضة والتي تعد دليل جيدا في حالة حصول الاصابة او تجددتها (12) . وقد لاحظ الباحث (10) وجود علاقة بين مقاومة الحملان للاصابة بديدان الرنة والزيادة في معدلات العدد الكلي للخلايا الدم الحمضة . ان عدم ظهور البرقات في براز حملان المجموعة الثالثة بعد اعطائها جرعة التحدي يبدو متفقا مع الباحث (12) الذي لم يلاحظ أي يرقة من براز الاغنام الممنعة باعطائها اصابة اولية طبيعية، وكذلك مع الباحث (3) عند استعمال لقاح "filiraq" وبعد اعطاء جرعة التحدي .

ان التعرض لمستوى عال من الاصابة يؤدي الى تحطيم او اضعاف المناعة المكتسبة من استعمال لقاح "Filiraq" مما يستدعي الاهتمام الى عدم الرعي في المناطق الموبوءة خصوصا قرب ضفاف الانهار ومناطق الاهوار التي يرتفع فيها مستوى الاصابة .

ان عدم تسجيل أي تغير ملحوظ في معدلات العدد الكلي لخلايا الدم الحمراء وحجم الخلايا المرصوصة وكمية خضاب الدم يتفق مع ما اورده الباحثون (12,9,3,7) ولا ينصح بأستخدامها كمعايير لها علاقة بالاصابة بديدان الرئة D. filraia لانها لاتسبب فقر الدم في الحيوانات المصابة .

المصادر References

- 1- الخفاجي ، نزار جبار مصلح (1978) : دراسة قابلية إصابة الاغنام العراقية بديدان الرئة Dictyocaulus filaria . اطروحة ماجستير – جامعة بغداد .
- 2- السعدي ، احمد عبد الامير (1981) : الاستجابة المناعية للاغنام العراقية "العرابي" الملقحة والمصابة تجريبيا بديدان الرئة Dictyocaulus filaria . اطروحة ماجستير – جامعة بغداد .
- 3- خليل ، فاروق جمعة (1979) : دراسة مختبرية لكفاءة لقاحي ديدان الرئة المشععين " Filiraq " و " Dictol " في الاغنام العراقية . اطروحة ماجستير – جامعة بغداد .
- 4- Kassai, T.; Altaif, K.I.; Kadhim , J.K.; Jabir , M.H. and Bayyar , H.A. (1972) . Experiment on the acquired resistance of sheep and goats induced by infection with irradiated and non –irradiated D.filaria larvae . Iraqi Med. J. 22 108 – 123.
- 5- Jabir, M.H. and Singh, K.S. (1981) . Successful trial of irradiated vaccine against D.filaria in Iraq. Ind. J.Anim. Sci. 51, (2) , 177-181.
- 6- Coles, E.H. (1997) . Veterinary clinical pathology . 4th ed. Saunders Co. Philadelphia , London. Toronto.
- 7- Dacie , J.V. and Lewis , S.M. (1963) . Practical Haematology. 3rd ed. J.and A. Churchill Ltd. London .
- 8- Soulsby, E.J.L. (1982) . Helminth , Arthropods and Protozoa of Domestic Animals . 7th ed. Bailliere Tindall, London.
- 9- Khalil, F.J.(1999). Immunization of goats with attenuated larvae of D.filaria by Laser and Gamma rays . Ph.D. Thesis , Baghdad University.

- 10- Al- Samarrae , S.A.G. (1975) . Epidemiology of parasitic bronchitis in sheep .Ph.D. Thesis. University of Edinburgh.
- 11- Dhar, D.N. and Sharma, R.L. (1978) . D.filaria in lambs. The effect of varying single infections on the subsequent larvae production . Vet. Parasitol . 4,221 – 229.
- 12- Wilson, G.I. (1970) . The strength and duration of immunity to D.filaria infection in sheep and goats . Res. Vet. Sci. 11, (7) , 7 –17.
- 13- Fedorchenko, A.N. Thesis (1966) .Cited from Erghor, V.S. (1968) . Immuniza, Selsko. Ziro. Gelmin. Moscow.
- 14- Michel , J.F.(1956) Studies on host resistance to Dictyocaulus infection . II- Re-infection experiments with D.filaria in sheep J. Com. Path. 66 , 241 – 248.
- 15- Michel, J.F. and Sinclair , I.J.B. (1963) . "Host resistance to D. filaria infection " parasite . 53 (3 & 4) 7 – 8 of proceedings.
- 16- Poynter, D.and Selway , S.(1966) " Diseases caused by Lung worms" . Helminth. Abs. 35, (2) 105 – 127.
- 17- Sokolic, A.; Jovanovic , M.; Cuperlovic , K. and Movsesijan, M. (1963) "Inhibition of development of D.filaria as an expression of immunity attained in sheep." J.Parasite. 49(4) , 612 – 616.
- 18- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. (1960) .Principle and procedures of statistics . Mc. Graw – Hill book Company , Newyork.

Summary

The effect of two challenge doses of Dictyocaulus filaria on the acquired immunity of sheep vaccinated with "Filiraq".

Al.Samarrae , S.A.G; Hassan, S.A.K* & Latif ,B.M.A.
Dept. of Internal and Presentive Veterinary Medicine, College of
Veterinary Medicine , University of Baghdad.

Twenty six lambs divided into four groups were used to study the effect of experimental infection with two challenge doses of D.filaria (100 & 300 larvae / Kg. B. W.) on the acquired immunity after vaccination with irradiated larval vaccine " Filiraq" . The clinical symptoms , eosinophilic response, blood picture, faecal larval counts , gross pathological changes & adult worm counts in the lungs were studied .

The results showed that a high dose of challenge (300 L / Kg) prevents the development of expected acquired immunity , however the other vaccinated & challenged group (100 L / Kg B.W) showed good level of acquired immunity in comparison with other group.

* part of M.Sc. thesis.