

تحضير لقاح مبطل محلي لمتلازمة موه التامور

ثابت معاذ النعمة و مزاحم ياسين العطار

فرع الأحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل - العراق

(الاستلام؛ ٢٧ ايار، ٢٠٠٧؛ القبول: ١٨ تشرين الثاني، ٢٠٠٧)

الخلاصة

حضر لقاح أحادي وآخر ثنائي مخمد بالفورمالين من عزلتين محليتين مختلفتين بالضرارة من فيروس الادينو النمط المصلي الرابع والمسبب لمتلازمة موه التامور في الدواجن ثم اجري تقييم لهذه اللقاحات بحقتها تحت الجلد في أفراخ بجاج عمر ١٠ أيام وحسب معيار الأضداد المتكونة فيها بعد أسبوع وأسبوعين من الحقن ثم اجري اختبار التحدي بعد أسبوعين من الحقن بالفيروس الضاري لكل عزلة وتمت مقارنة النتائج مع نتائج لقاح مسؤرد أحادي واعتبر سيطرة موجبة. وقد أظهرت نتائج هذه التجربة أن اللقاح الثنائي المخمد بالمسؤرد من كلا العزلتين ذو كفاءة أفضل من اللقاحات المحضرة الأحادية وكذلك أفضل من اللقاح المسؤرد الأحادي.

PREPARATION OF LOCAL INACTIVATED HYDROPERICARDIUM HEPATITIS SYNDROME VACCINE

Th. M. Al-Nima and M.Y. Al-Attar

Department of Microbiology, College of Veterinary Medicine,
University of Mosul, Mosul, Iraq

ABSTRACT

Monovalent and Bivalent formalin inactivated vaccine was prepared using two different in pathogenecity local isolates of adeno virus serotype 4 which causing hydropericardium hepatitis syndrome in chicken. The efficacy evaluation was carried out by S/C injection of prepared vaccine in 10 days old chickens. Antibodies titer was calculated after 1 and 2 weeks post injection, challenge test after two weeks of injection was performed by the virulent isolates separately and compared with imported monovalent vaccine as positive control. Results showed that the bivalent prepared vaccine was more efficient than monovalent and imported vaccine.

المقدمة

متلازمة مسوء التامور والتهاب الكبد- Hydropericardium Hepatitis Syndrome من الأمراض الفيروسية التي تصيب الدجاج بأعمار ٣-٦ أسابيع محدثة نسبة هلاك عالية (١). شخص المرض في العراق لأول مرة عام ١٩٩١ (٢). عزل الفيروس المسبب وهو النمط المصلي ٤ من فيروس الأدينو وتم تمييز عترتين مختلفتين في الفوعة أحدهما عالية الضراوة وأخرى متوسطة الضراوة في محافظة نينوى (٣) علما بأن الفيروس سبق عزله في حقول دواجن مدينة بغداد (٤). ولغرض السيطرة على المرض استخدم لقاح مخمد محضر من النمط المصلي الرابع من فيروس الأدينو المعزول في باكستان بالإضافة إلى استخدام بعض الباحثين مستخلصات الأعداد المصابة المبغلة بالفورمالين لغرض تحضير لقاح للسيطرة على المرض (٥). وتم أيضا تحضير لقاح مبطل بالفورمالين من عزلة واحدة مفردة من بغداد (٦) و لوحظ عدم حصول حماية كافية للأفراخ المنقحة بهذه اللقاحات عند التحدي بالعزلات المحلية في القطر (٧)، ونظرا لاستمرار ظهور الحالات المرضية في العراق بالرغم من استخدام اللقاح إلا حادي المتوفر فقد أجري هذا البحث لتحضير لقاح مناسب من أكثر من عزلة واحدة من العزلات المحلية، ومقارنة كفاءة اللقاح الأحادي العزلة باللقاح الثنائي من أكثر من عزلة واحدة.

المواد وطرائق العمل

تحضير اللقاح: تم الحصول على عزلتين مختلفتين بالطبيعة الامراضية تم عزلهما في مختبر الفيروسات في كلية الطب البيطري جامعة الموصل من قبل (٣) وأعطيتا الرقمين ١ وهي عزلة متوسطة الفوعة و ٢ وهي عزلة عالية الفوعة و العزلتين منماة على أجد: البيض (كيس المح) التمرير الخامس ذات معيار قدره 10^4 EID 50/0.2 m l وجرت محاولة تحضير لقاح منها وكما يأتي:

تحضير اللقاح الفيروسي المخمد:

عملية إخماد الفيروس: تم إتباع طريقة (٥) حيث أضيف ٠,٢ مللتر من الفورمالين ١٧% إلى ١٠٠ مللتر من الفيروس للعزلتين ١ و ٢ كلا على حدة ومجموعة ضمت كلا العزلتين في أن واحد وذلك لإخماد الفيروسات بدرجة حرارة ٤٠م لمدة ٢٤ ساعة مع الرج بعدها أدريت الاختبارات الخاصة بالفيروس المخمد.

الكشف عن اكتمال التثبيت للفيروس: من خلال حقن الفيروس المخمد بالفورمالين في كيس

المح مع وجود ضابط موجب من فيروس غير مخمد (٦).
تحضير المصل للمنع: اتبعت الطريقة التي ذكرها (٨) للحصول على مصل يحوي الأضداد الخاصة بمتلازمة موه التامور والتهاب الكبد لكل عزلة.
اختبار نقاوة للفيروس المخمد: باتباع الطريقة التي ذكرها (٥) للكشف عن الملوثات البكتيرية.

اختبار التلازن الدموي المباشر: اجري اختبار التلازن الدموي المباشر لكريات الدم لحمى لطفان لغرض معرفة معيار الفيروس المخمد والتأكد من السلامة المستضدية له بعد عملية الإخماد بالفورمالين وحسب ما ذكره (٩) ومقارنته مع الخزين الفيروسي قبل الإخماد واجري هذا الاختبار للعزلتين او ٢.

اختبار الكفاءة المناعية للفيروس المخمد: اتبعت الطريقة التي ذكرها (٥) وذلك بتوفير ٢٠٠ فرخ من دجاج فروج اللحم بعمر يوم واحد وقسمت إلى مجاميع كل مجموعة ٤٠ فرخا نسي أفاص منفردة ولقحت الأفراخ بعمر ١٠ يوم وجرعة ٠,٥ مللتر /طير تحت الجلد كما يأتي:-
المجموعة الأولى: تلقت بالعزلة الأولى المخمدة لوحدها.

المجموعة الثانية: تم تلقيحها بالعزلة الثانية المخمدة لوحدها أيضا.

المجموعة الثالثة: تم تلقيحها بفيروسات العزلتين الأولى والثانية المخمدتين كليهما.

المجموعة الرابعة: لقحت بلقاح منتج من شركة مريال الفرنسية يحوي على العزلة الباكستانية للمط المصلي الرابع المخمد وجرعة ٠,١ مللتر /طير تحت الجلد حسب تعليمات الشركة .
المجموعة الخامسة: مجموعة السيطرة السالبة حققت بمحلول الملح الفسلجي بكمية ٠,٥ مللتر تحت الجلد .

اختبار التعادل المصلي: استخدمت الطريقة التي ذكرها (١٠) حيث اجري فحص للمصل المأخوذ من الأفراخ الملقحة بالفيروسات المخمدة المحضرة في هذه التجربة بعد أسبوع وأسبوعين من التلقيح.

اختبار التحدي: اجري اختبار التحدي على جميع الأفراخ الملقحة ويضمنها مجموعة السيطرة السالبة بجرعة ١ مللتر/طير في الخلب في EID 50/0.2 ml 10^4 من كلا الخزين الفيروسي للعزلتين الأولى والثانية كلا على حدة بعد ١٤ يوما من التلقيح وتمت مراقبة الأفراخ لمدة عشرة أيام.

النتائج

نتائج لاختبارات الفيروسات للقاحية: استدل على إخماد الفيروس بصورة كاملة عدم ظهور أي هلاك في الأجنة المحقونة أو أي تأثيرات مرضية. وأظهرت الأوساط الزرعية خلو الفيروس المخمد من الجرثيم. وان الفيروس المخمد له القابلية على تليين كريات دم حمز الفئران بانخفاض معياري من 64 قبل الإخماد إلى 32 بعد الإخماد بالنسبة للعزلة الأولى و من 128 قبل الإخماد إلى 64 بعد الإخماد بالنسبة للعزلة الثانية .

نتائج اختبار التحدي للفيروس المخمد:

المجموعة الأولى: أظهرت المجموعة الملقحة بالعزلة الأولى المخمدة والمتحديسة بالفيروس الضاري من نفس العزلة حماية مقدارها 100% بينما فشلت في إعطاء حماية كاملة عندما تم التحدي بفيروس العزلة 2.

المجموعة الثانية: أظهرت هذه المجموعة الملقحة بالعزلة الثانية المخمدة حماية مقدارها 100% عند التحدي بفيروس العزلة ذاتها ولكن عند التحدي بفيروس العزلة الأولى ظهرت أفات مرضية عيانية على بعض الأفرخ بعد ذبحها عند انتهاء التجربة.

المجموعة الثالثة: أظهرت الأفرخ الملقحة بالقاح المخمد والحاوي على كلا العزلتين الأولى والثانية كفاءة مناعية أفضل من بقية المجاميع فقد أعطى نسبة حماية بلغت 100% عند التحدي بكلا العزلتين كل على انفراد. ولم يلاحظ حصول أفات مرضية عيانية بعد ذبح جميع الأفرخ عند انتهاء التجربة.

المجموعة الرابعة: أما المجموعة الملقحة بلقاح منتج من شركة مريال والذي يحوي على العزلة الباكستانية المخمدة فلم يعط حماية كافية حيث بلغت النسبة 75%.

المجموعة الخامسة: أما مجاميع السيطرة فبلغت نسبة الإصابة 100% نتيجة حقن عزلتين كل على انفراد على الأفرخ.

نتائج اختبار التعادل المصلي: أظهرت المجموعة الملقحة بفيروس العزلة الأولى المخمدة معياراً من الأضداد في الأسبوع الأول بعد التلقيح قدره 4 وارتفع إلى 8 في الأسبوع الثاني وبالنتيجة نفسها أظهرت المجموعة الملقحة بالعزلة الثانية المخمدة والمجموعة الملقحة بكلا العزلتين بينما أظهرت المجموعة الملقحة بلقاح شركة مريال معياراً من الأضداد المعادلة بدم في الأسبوع الأول 2 ولم يرتفع إلى أعلى من ذلك في الأسبوع الثاني بعد التلقيح وأظهرت مجموعة السيطرة خلوها من الأضداد المعادلة لعزلات موه للتأمور والتهاب الكبد. جدول (1).

الجدول ١: معيار الأضداد المعادلة للعزلات في المجاميع الملقحة بالفيروس المخمد

معيار الأضداد Log2		المجموعة
الأسبوع الثاني	الأسبوع الأول	
٨	٤	المجموعة الملقحة بفيروس العزلة الأولى المخمدة
٨	٤	المجموعة الملقحة بفيروس العزلة الثانية المخمدة
٨	٤	المجموعة الملقحة بفيروس العزلة الأولى والثانية المخمدة
٢	٢	لمجموعة الملقحة بلقاح شركة مريال
٠	٠	مجموعة السيطرة السالبة

المناقشة

بعد تحضير لقاح ضد متلازمة موه التامور والتهاب الكبد في الدواجن من عزلات محلية مختلفة الامراضية في قطرنا وإجراء دراسة مستفيضة ضرورية في الحد من خسارة هذا المرض وتأثيره السلبي في نمو صناعة الدواجن في العراق وتطويرها، كما يعطى مباشرة مهما لوضع برنامج إستراتيجي وقائي كفاء للمرحلة الراهنة ويجنب هدر الأموال الضائلة تم اختيار عزلتين مختلفتين بالا امراضية العزلة الأولى ذات فوعه امراضية متوسطة والثانية ذات فوعه امراضية عالية لتحضير اللقاح و آخر يجمع هاتين العزلتين معا ومر ثم إجراء المقارنة بينهم. ولغرض إخماد العزلتين الأولى والثانية ذات المعيار الفيروسي 10^4 EID 50/0.2ml و 10^4 EID 50/0.2ml على التوالي تم استخدام مادة الفورمالين بتركيز ٠.٢% وتجنبنا استخدام التراكيز العالية التي ربما تحطم القابلية المناعية للفيروس (١١) وهذا يتفق مع (٦) و(١٢) للذين استخدموا نفس التركيز من الفورمالين أيضا، وللتأكد من عدم تأثير المحددات المستضدية نتيجة الإخماد بالفورمالين تم قياس قابلية العزلتين على تنزيه اريات دم حمر الفئران بعد الإخماد مما دل على سلامة هذه المحددات وعدم تأثيرها بالإخماد، وهذا الرأي مطابق (٩).

ومن خلال نتائج فحص التعادل المصلي للمجاميع الثلاثة الملقحة باللقاح المخمد تبين أن معيار الأضداد بدأ بالارتفاع في المجاميع الثلاثة الملقحة باللقاح المخمد في الأسبوع الأول.

بمقدار ٤ وبلغ أعلى مستوى له في الأسبوع الثاني وبمقدار ٨ وهذا يدل على استجابة مناعية خلطية مطابقة لما توصل إليه الباحثين (١٧،١٤،١٣).

ولقياس الكفاءة المناعية بعد أسبوعان من التلقيح أعطيت جرعة تحدي بحقن الفيروسي الضاري لكلا العزلتين وكلا على حدة وجرعة ٠,٥ مللتر / طير عن طريق الخلب وهي الطريقة التي اعتمدها (١٢). و فحص التحدي بعد مقياسا أساسا لاختبار فعالية اللقاح وان مقاومة التحدي هو المقياس العلمي المهم في اختبار فعالية أي لقاح. (١٥)

إما نتائج المجموعة الملقحة باللقاح الثنائي من كلا العزلتين الأولى والثانية المخصبتين أظهر نتائج متميزة حيث أعطت حماية كاملة ضد الإصابة بالنوعين من خزين العزلات. وفي النتيجة التي يجب الاعتماد عليها لان الحماية ضد العزلة الأولى معناه الحماية ضد العزلة الموصفة بمتوسطة الضراوة وبنفس الوقت فإنها تعطى حماية للعزلة المحلية الضارية مما يشير الى وجود تباين واضح في مرضية العزلات الفايروسية المحلية وهذا ما أشار إليه (**).

أما المجموعة الملقحة بلقاح منتج من شركة مريال المحضر من العزلة الباكستانية المخمدة فلم تعطى حماية كافية مما يشير إلى محدودية تأثير اللقاح المحضر من عزلة أجنبية من وقاية إصابة النجاج المحلي الملقح به و المعرض للإصابة بالعزلات المحلية التالية. وهذه النتيجة تتفق مع ما ذكره (٧) وتختلف مع ما ذكرته (٦) وان تعليل ذلك يعود لاستخدام عزلة محلية واحدة في التحدي.

يعزز نتائج التحدي إصابة مجاميع السيطرة بنسبة ١٠٠% من الإصابات نتيجة حقن العزلتين كلا على انفراد على الأفراخ حيث هلكت الأفراخ بعد اليوم الثالث بصورة مفاجئة مع وجود أفات موه التامور والتهاب الكبد التي شملت تجمع سوائل في تجويف القلب مع إصابة الكبد ببؤر نخرية ووجود نزف وافات على الكلى في الأفراخ المصابة. وهذه النتائج تتفق مع كل من (١٧،١٦،١٤،٥).

المصادر

- 1- Shane, SM, Jaffery MS. Hydropericardium hepatitis syndrome (Angara disease). In: Disease of poultry. Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM (eds) 10th ed; Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA 1997.
- 2- Ab-ul-Aziz TA, Al-Attar MA. New syndrome in Iraqi chicks. Vet Rec 1991; 129: 271 - 276
- ٣- التعمية، ثابت معاذ. دراسة العزلات الفيروسية المسببة لمتلازمة موه التامور في فروج اللحم و توصيفها ومحاولة تحضير لقاح في محافظة نينوى ٢٠٠٦. أطروحة دكتوراه؛ كلية الطب البيطري - جامعة الموصل
- 4- Odisho SM, Al-Bana A, Majeed AK. Hydropericardium in broiler chicks in Iraq: Isolation and identification of causative virus. Iraqi J Vet Med; 19-20(1): 130-141
- 5- Ahmad I, Mailk ML, Iqbal K, Ahmad K, Naz S 1990. Efficacy of formalin zed liver organ against Angara disease in broiler. VET ARHIV 1995; 60:131-138.

- ٦- طبية، رشا مهدي دراسة تحضيرية لإنتاج لقاح فيروسى مبطل زيتى لمتلازمة موه التامور في الدجاج
٢٠٠٢، رسالة ماجستير - كلية الطب البيطري - جامعة بغداد
- ٧- دنيا، فنار أبلحد اسحق، دراسة مقارنة للتاحات المستخدمة للسيطرة على مرض إنكازا بالدواجن ٢٠٠١،
رسالة ماجستير - كلية الطب البيطري - جامعة الموصل
- 8- Kumar R, Chandra R, Shukla SK, Agrawal DK, Kumar M. Hydropericardium syndrome in India: A preliminary study on causative agent and control of disease by inactivated and autogenous vaccine. *Anim Health and Prod* 1997; 29: 158-164.
- 9- Crouch CF. Vaccination against enteric Rota and corona viruses in cattle& pigs enhancement of lactogenic immunity. *Vaccine* 1985; 3; 284-291.
- 10- Rovozzo GC, Burke CN. *Manual of basic virological technique*. Prentice-Hall inc., Englewood Cliffs, New Jersey 1973; PP: 139-150.
- ١١- خماس، عماد جواد وحناء، آيت ميخائيل، متلازمة التهاب الكبد وموه التامور والتلقيح بعناق الكبد المعصاب.
المجلة الطبية البيطرية العراقية، ٢٠٠٠، ٢٤(٧): ٦٦-٥٤.
- 12- Hussain I, Munir R, Al-Attar M, Ahmad R. Evaluation and comparison of hydropericardium syndrome vaccines in broiler chicks. *Pak J* 1999; 19(2): 88-90.
- 13- Hussain I, Rassol MH, Zahoor MA, Mansoor MK. Hydropericardium Syndrome in Commercial Broilers Indirect Hemagglutination Test Based Sero-prevalence. *International Journal of Agriculture & Biology* 2003; 5: 292-294 .
- 14- Roy P, Koteeswaran A, Manickam R. Efficacy of an inactivated oil emulsion vaccine against hydropericardium syndrome in broiler. *Vet Rec* 1999; 145: 458-459.
- 15- Hussain I, Anjum AA, Khan IUH. An oil emulsion vaccine against hydropericardium in broiler chickens. *Pak Vet J* 1996; 16(3): 125-127.
- 16- Balamurugan V, Kataria JM. The Hydropericardium Syndrome in Poultry- A Current Scenario. *Vet Res communications*. 2004; 28: 127-148
- 17- Ahmad K. In vivo pathogenicity of hydropericardium hepatitis syndrome (Angara disease) and efficacy of vaccines. *Pak Vet J* 1999; 19: 200-202.