

دراسة نسجية لتأثير لقاح التهاب القصبات الهوائية الخمجي لعنزة H120 في فروج اللحم

سؤدد محمد احمد الحمداني و طارق سالم قبيع*

فرع الامراض وامراض الدواجن، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق
* e-mail: Qubih_vet_med@yahoo.com

الخلاصة

تم إجراء دراسة نسجية لمعرفة التفاعلات الناتجة عن التلقيح بعنزة (H120) لمرض التهاب القصبات الهوائية الخمجي في فروج اللحم من نوع روز الانكليزي ٣٠٨ Ross بعمر يوم واحد. إذ تم استخدام ثلاثة طرق تلقيحية هي التقطير بالعين، ماء الشرب، والرش بتجربتين. في التجربة الاولى تم اخذ عينات دم لغرض الفحص المصلي باستخدام تقنية الاليزا. وتم اخذ عينات من الاعضاء (القصبة الهوائية والرئة والكلى) لغرض التقطيع النسجي بعمر ٣ و ٦ و ٩ و ١٢ يوم بعد التلقيح الاول. اما التجربة الثانية تم اخذ نماذج من الاعضاء (القصبة الهوائية والرئة والكلى) بعمر ١٨ و ٢١ و ٢٤ و ٢٧ و ٣٠ و ٣٥ يوم بعد التلقيح الثاني. وكانت نتائج التجربة الاولى هي ان طريقة التلقيح بالتقطير بالعين اعطت نتائج افضل من التلقيح بطريقتي الرش او ماء الشرب من ناحية المستوى المناعي. وكانت التغيرات النسجية غير ملحوظة لعدم حصول تفاعل لقاحي في النسيج من الايام الاولى بعد التلقيح. أما نتائج التجربة الثانية فلو حظ تفاعل لقاحي نسجي اكثر لكل من طريقتي ماء الشرب والرش.

Histological study on the effect of infectious bronchitis vaccine strain H120 in broilers

S. M. A. Al-Hamadany and T. S. Qubih*

Department of Pathology and Poultry Disease, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

Histological study was performed to know the vaccinal reactions for infectious bronchitis on broiler type Ross (308) by using (H120) vaccinal strain, at one day old by three routs. Eye drop, Drinking water and spraying, respectively by two experiment. First experiment the serum was taken for serological test (ELIZA) and samples from (trachea, lung and kidney), were taken for histopathological examination at days 3, 6, 9, 12 after first vaccination. In the second experiment samples from (trachea, lung and kidney) were taken at days 18, 21, 24, 27, 30 and 35 after second vaccination. The result of first experiment showed that vaccination by eye drops gives best result than both spraying and drinking water from serological level, and no histological changes were observe due to no vaccinal reaction in the first days after vaccination. In the other hand the result of second experiment showed more histological reaction for both drinking water and spraying routs.

Available online at <http://www.vetmedmosul.org/ijvs>

منطقة داكوتا الشمالية North Dakota في الولايات المتحدة
الامريكية سنة ١٩٣١ من قبل العالمين Schalk & Hawh،
يصيب هذا المرض الجهاز التنفسي في الدجاج (١)، ولهذا
المرض القابلية على الانتشار بصورة سريعة وله فترة حضانة
قصيرة مابين ١-٣ يوم يتكاثر العامل المسبب في العديد من

المقدمة

يعد مرض التهاب القصبات الهوائية الخمجي الطيري Avian
Infectious Bronchitis من الامراض الخمجية التي تصيب
الدواجن وباعمار مختلفة العامل المسبب هو فايروس من عائلة
الكورونا Coronaviridae، وصف العامل الممرض لأول مرة في

المجموعة الثالثة (التقطير بالعين): ١٢ فرخة تم تلقيحها عن طريق الرش و ١٢ فرخة تم تلقيحها عن طريق ماء الشرب. وتم جمع عينات الاعضاء (القصبة الهوائية، الكلى، الرئة) لغرض الفحص النسيجي عند الاعمار (٢١ و ٢٤ و ٢٧ و ٣٠ و ٣٥).

الاختبار المناعي الممتز غير المباشر

اجرى هذا الاختبار على امصال الافراخ التي لقحت بلقاح (H120) مع امصال مجموعة السيطرة واستخدم هذا الاختبار Kit خاص مجهز من قبل شركة Jovac الاردنية، وجرى الاختبار حسب تعليمات الشركة المجهزة، تم استخدام جهاز المطياف الضوئي عند طول موجي ٤٠٥ نانوميتر، ثم تم حساب قيمة المعيار.

الفحص النسيجي

تم تثبيت العينات في محلول الفورمالين المتعادل الدائري بتركيز ١٠٪ لمدة ٤٨ ساعة، بعد ذلك اجري عليها تمريرات الكحول والزايولول ثم صب العينات في مكعبات الشمع وتقطيعها بجهاز المشراح وصبغت الشرائح بالصبغة الروتينية Hematoxyline and Eosin وحسب طريقة (٤).

التحليل الإحصائي

تم تحليل البيانات الخاصة بمستوى الاجسام المضادة في امصال الافراخ وابعامار مختلفة تبعاً لطرق التلقيح بواسطة التصميم العشوائي الكامل (CRD)، وكما جاء في (٥). وتم استخدام طريقة Duncan لمقارنة الفروقات بين المتوسطات وعند مستوى احتمالية $P < 0.05$.

النتائج

بالرجوع الى جدول رقم (١) تبين ان هنالك فرق معنوي عند مستوى احتمالية $P < 0.05$ بعمر ٣ ايام للافراخ التي لقحت عن طريق ماء الشرب اذ كان مستوى المناعي ٢٣٣٠ في حين مستوى الاضداد للافراخ السيطرة كانت ٢٥٢٠، وعند عمر ٦ ايام كان هنالك فرق معنوي في مستوى الاضداد في الافراخ التي لقحت عن طريق ماء الشرب والرش عن السيطرة اذ كان المستوى المناعي على التوالي ٣٠٢٥ و ٢٧٥٠ و ٢٤١٠. اما عند عمر ٩ ايام لم نجد أي فرق معنوي بين المجاميع الملقحة مع مجموعة السيطرة، وعند عمر ١٤ يوم كان هنالك فرقاً معنوياً لطريقة التلقيح بالرش والتي كانت ١٧٩٥ مقارنتها بمجموعة السيطرة ١٥٩١.

الجدول (١): يوضح تأثير طريقة التلقيح ضد مرض التهاب القصبات الهوائية الخمجي بعمر يوم واحد بعترة H120 في مستوى المناعة في أفراخ فروج اللحم عند أعمار مختلفة.

الانسجة ومن ضمنها (القصبة الهوائية، الرئة، الكلى، الطحال، قناة البيض، واعضاء اخرى (٢).

هنالك العديد من اللقاحات التي استخدمت لمواجهة مشاكل هذا المرض ومنها اللقاح الخمجي المضعف (٣). للفيروس عتر كثيرة وعلى الرغم من ذلك مازالت تستخدم العتر الكلاسيكية وهما Massachusetts و Connecticut، بالإضافة الى عترة Holland الموجودة بشكل واسع في الولايات المتحدة الأمريكية (١)، ولذلك فان هذه الدراسة تهدف الى التعرف على العلامات السريرية و التغييرات العيانية والنسجية لبعض الاعضاء (القصبة الهوائية، والرئة، والكلى للدجاج) المعاملة بلقاح التهاب القصبات الهوائية الخمجي بالإضافة الى معرفة تأثير طرق التلقيح على الاعضاء المختلفة.

المواد وطرق العمل

الأفراخ

استخدمت ١٢٠ فرخة فروج لحم بعمر يوم واحد من نوع Ross (308) الانكليزية الاصل من فقس (الامين/ الموصل)، وتم تربية الافراخ في اقفاص خاصة ومعدة لهذا الغرض وفي ظروف جيدة من اضاءة وكذلك الكثافة العديدية.

العلف

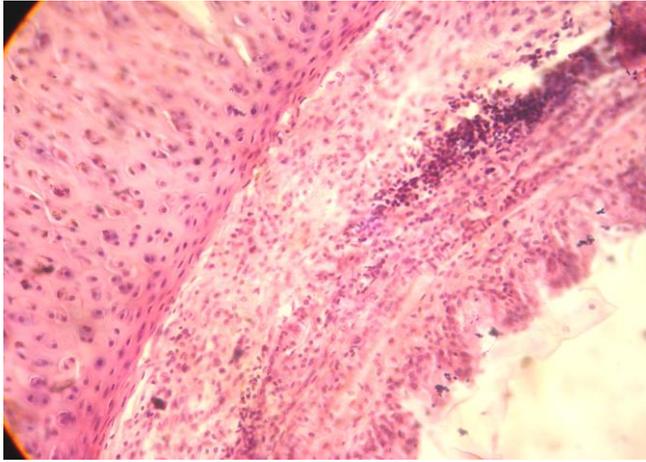
استخدمت عليقة متوازنة وفق مواصفات الشركة المجهزة من حيث البروتين ٢١٪ وكمية الطاقة ٣٠٠٠ سعرة حرارية.

اللقاحات

استخدمت عترة H120 وهو لقاح حي مضعف منتج من قبل شركة Ceva الهنكارية وكان بشكل مجفد واستعمل حسب تعليمات الشركة.

تصميم التجارب

تم تلقيح الافراخ عند عمر يوم واحد بلقاح H120 وقسمت الافراخ الى ثلاثة مجاميع كل مجموعة ٣٦ فرخة لقحت المجموعة الاولى عن طريق الرش والثانية عن طريق ماء الشرب والثالثة عن طريق التقطير بالعين اما المجموعة الرابعة فهي السيطرة وعددها ٣٤ فرخة، وتم جمع عينات الدم للاعضاء (القصبة الهوائية، الرئة، الكلى) لغرض الفحص النسيجي عند الاعمار ٣، ٦، ٩، ١٢ يوم. تم تلقيح الافراخ مرة ثانية عند عمر ١٨ يوم، حيث قسمت كل مجموعة من المجاميع الواردة في التجربة الاولى الى قسمين وبذلك بلغ عدده كل مجموعة ١٢ فرخة اضافة الى السيطرة وعدد الافراخ فيها ٣٠ فرخة، في المجموعة الاولى (الرش): ١٢ فرخة تم تلقيحها عن طريق ماء الشرب و ١٢ فرخة تم تلقيحها عن طريق التقطير بالعين. في المجموعة الثانية (ماء الشرب): ١٢ فرخة تم تلقيحها عن طريق الرش و ١٢ فرخة تم تلقيحها عن طريق التقطير بالعين. في



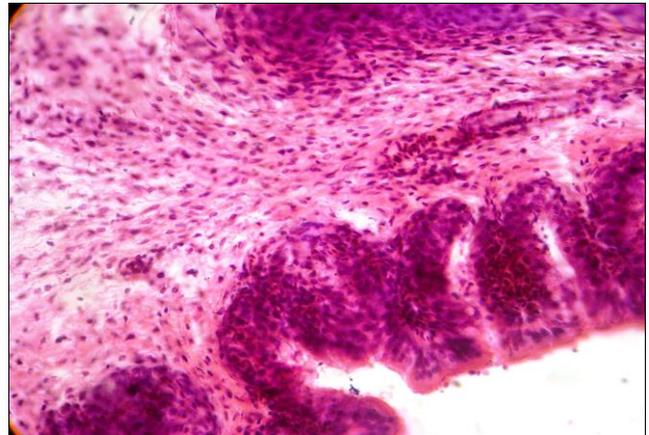
شكل ٢: مقطع عرضي في قصبه هوائية طير بعمر ٣٠ يوم وتم تلقيحه بعثرة (H120) عن طريق التقطير بالعين. لاحظ تثخن مخاطية القصبية الهوائية نتيجة لارتشاحها باعداد كبيرة من الخلايا الالتهابية احادية النواة. صبغة الهيماتوكسلين و الأيوسين. X 370.

اظهرت نتائج الفحص النسجي للمقاطع النسجية للرنه عند مجموعة الدجاج الملقحة بعثرة H120 بطريقة التقطير بالعين عدم وجود تغيرات مرضية مقارنة بمجموعة السيطرة عند الايام ٣، ٦، ٩، ١٢. اما في مجموعة الدجاج التي لقحت عن طريق الرش، فكانت مشابهة لما ذكر انفا الا انه لوحظ عند اليوم ٢٤ تثخن القصبية الهوائية لوجود خبز وارتشاح اعداد كبيرة جداً من الخلايا احادية النواة الشكل (٣). اما عند الايام ٢١ و ٢٤ و ٢٧ و ٣٠ و ٣٥ فقد تكررت التفاعلات المذكورة انفاً اما في المجموعة الدجاج التي لقحت بطريقة ماء الشرب قد تكررت التفاعلات المذكورة انفاً عن الايام ٣ و ٦ و ٩ و ١٢ و ٢٧ و ٣٠ و ٣٥ يوم.

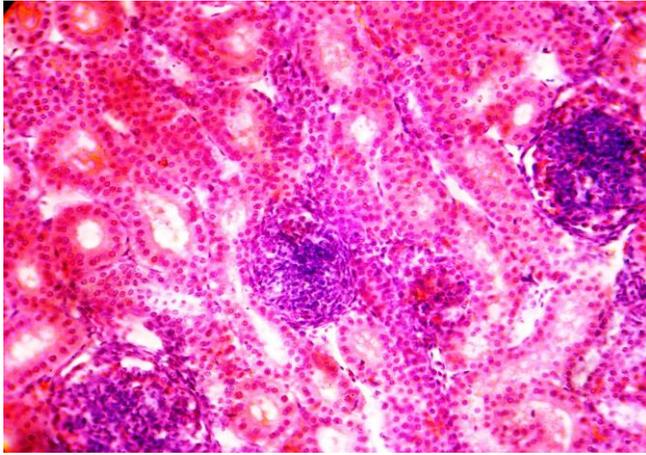
اوضحت نتائج التقطيع النسجي المرضي لكلية الافراخ الملقحة بعثرة H120 عن طريق الرش وجود تفاعلات نسجية عند اليوم السادس من التلقيح، اذ لوحظ وجود ارتشاح اعداد كبيرة جداً من الخلايا الالتهابية المتعددة النواة والاحادية النواة في كل من الكبيبات الكلوية والنسيج الخلائي فضلاً عن وجود تورم خلوي حاد في بعض الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية الشكل (٤). اما في مجموعة الدجاج الملقحة بعثرة H120 عن طريق ماء الشرب لوحظ وجود تغيرات مشابهة لما ذكر انفاً من اليوم ٣ الى ٣٠ من عمر الطيور الشكل (٥).

العمر بالأيام	السيطرة	التلقيح بالتقطير بالعين	التلقيح بماء الشرب	التلقيح بطريقة الرش
٣	٢٥٢٠	٥٠±٣٠٥٠	٣٠±٢٣٣٠	٣٧±٢٩٣٧
	a	a	b	a
٦	٢٤١٠	١٢±٢٥٢٦	٢٥±٣٠٢٥	٥٠±٢٧٥٠
	a	c	b	a
٩	١٧٤٦	٥٠±٣٠٥٠	٥١±٣٣٩٠	٢٥±٢٣٧٥
	a	a	a	a
١٤	١٥٩١	٢٠±٢٤٢٠	٣٢±٢٣٣٨	٥±١٧٩٥
	a	a	a	b

من نتائج المقاطع النسجية لمجموعة الافراخ الملقحة بعثرة H120 عن طريق التقطير بالعين لم تظهر اي تغيرات حتى عمر ٢٤ يوم من عمر الافراخ حيث لوحظ ارتشاح اعداد كبيرة جداً من الخلايا الالتهابية احادية النواة في جدار القصبية الهوائية الشكل رقم (١)، اما عند عمر ٣٠ يوم فقد تبين تثخن في مخاطية القصبية الهوائية لارتشاحها باعداد كبيرة جداً من الخلايا الالتهابية احادية النواة الشكل رقم (٢). وقد تكررت الافات المذكورة انفاً عند عمر ٢٧ يوم لطريقتي التلقيح بالرش وماء الشرب.



شكل ١: مقطع عرضي في قصبية طير بعمر ٣٠ يوم وتم تلقيحه بعثرة (H120) عن طريق التقطير بالعين. لوحظ ارتشاح اعداد كبيرة جداً من الخلايا الالتهابية احادية النواة في جدار القصبية الهوائية. صبغة الهيماتوكسلين و الأيوسين. X 370.

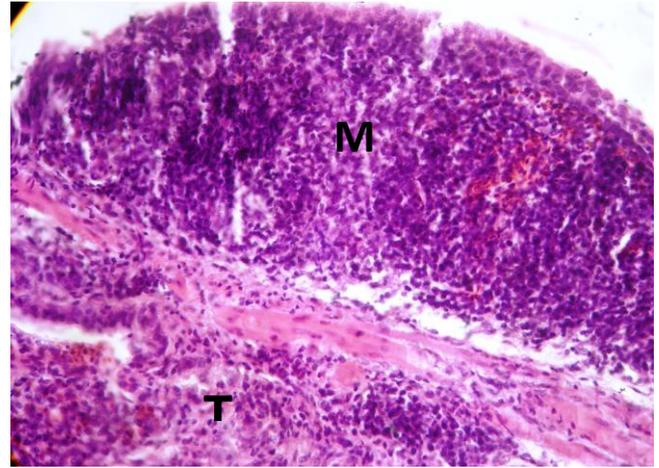


شكل ٥: مقطع عرضي في كلية طير بعمر ٣٠ يوم وتم تلقيحه بعثرة (H120) عن طريق ماء الشرب. يلاحظ ارتشاح اعداد كبيرة جداً من الخلايا الالتهابية احادية النواة في الكبيبات الكلوية. صبغة الهيماتوكسلين و الأيوسين. 370 X.

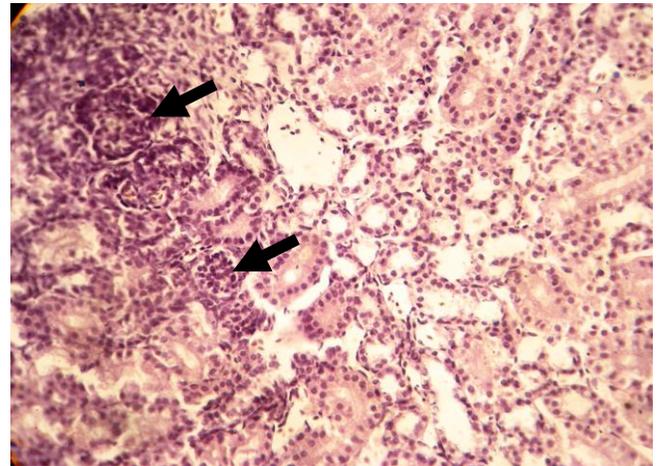
المناقشة

تم في هذه الدراسة اجراء مقارنة لثلاثة طرق تلقيحية ضد مرض التهاب القصبات الهوائية الخمجي باستعمال عترة H120 حي مضعف حيث تم اختيار عمر يوم واحد للتقبح من فترة التربية لتحفيز الجهاز المناعي عند الطيور في وقت مبكر من فترة التربية للوقاية والحماية من المرض في مراحل المبكرة وهذا يتفق مع (٦).

ومن ملاحظة نتائج الفحص المناعي في اليوم الاول لوصول الافراخ كانت ٢٥٢٠ وهذه تمثل المناعة المكتسبة من الامهات الى الافراخ وتبين ان طريقة التلقيح بماء الشرب بدأت بالارتفاع التدريجي منذ اليوم السادس والتاسع وكانت هذه الطريقة ذات فرق معنوي بين الطريقتين الاخيرتين (الرش، والتقطير بالعين)، ويعود السبب الى كون الطريقة تحفز المناعة الخلوية العامة وهذا يحتاج لان يتكاثر الفيروس داخل الجسم المصاب ثم يحفز الجهاز المناعي ويرفع مستوى الاجسام المضادة في امصال الطيور الملقحة (٧) اما طريقة الرش والتقطير بالعين فكان مستوى الاجسام المضادة المناعية مرتفعاً ثم بدأت بالانخفاض تدريجياً خلال اليوم السادس والتاسع من عمر الطيور الملقحة، ويعود السبب الى كون الكلوبولين IgA الذي عادة مايتحطم مع تقدم العمر. مما يؤدي الى انخفاض في مستوى المناعة في امصال الطيور الملقحة بها بين الطريقتين (٨). تتفق نتائجنا مع (٦)، اما عند عمر ١٤ يوم فكانت نتائج الفحص المصلي الاليزا قد انخفضت في جميع الطرق، ويعود السبب الى عدم اعطاء جرة لقاح معززة ثانية .



شكل ٣: مقطع عرضي في رئة طير بعمر ٢٤ يوم وتم تلقيحه بعثرة (H120) عن طريق الرش لاحظ ارتشاح اعداد كبيرة جداً من الخلايا الالتهابية احادية النواة في مخاطية القصيبة (M) و النسيج الخلالي الرئوي (T). صبغة الهيماتوكسلين و الأيوسين. 370 X.



شكل ٤: مقطع عرضي في كلية طير بعمر ٦ يوم وتم تلقيحه بعثرة (H120) عن طريق الرش لاحظ ازدياد خلوية الكبيبات الكلوية (الاسهم) وارتشاح اعداد كبيرة جداً من الخلايا الالتهابية احادية النواة في الكبيبات و النبيبات و النسيج الخلالي. صبغة الهيماتوكسلين و الأيوسين. 370 X.

وجود قوالب البولان وبؤر تنخرية وخلايا حبيبية وارتشاحات لمفية وتوسع النيبات ونخر النيبات الملفوفة الدانية (١٦-١٨).

الشكر والتقدير

تم دعم البحث من قبل كلية الطب البيطري، جامعة الموصل

المصادر

1. Cavanagh D and Naqi SA. Infectious Bronchitis. In: Barnes H.J.; Glisson, J.Z.R.; Fadly, A.M.; McDougald, L.R. and Swayne, D.E. Diseases of Poultry. 11th ed. Blackwell Publishing Company., USA. 2003, pp:101-141.
2. Dhinakar Raj G and Jones RC. Infectious Bronchitis virus. Immunopa thogenesis of infection in chicken. Avian Pathol. 1997;26:677-706.
3. Tarpey I, or bell SJ, Todg Sont T, lin F, Hogan E.; Cavanaugh D. Safty and efficacy of an infectious bronchitis virus used for chicken embryo vaccination. Vaccine, 2006, 24:6830-6838.
4. Salumelson DA. Veterinary Pathophysiology Chapter (6). Black Well Publishing, 2007, pp. 177.
5. الراوي، خاشع، عبد العزيز خلف الله (١٩٨٠)، تصميم وتحليل التجارب الزراعية، دار الكتب والنشر، جامعة الموصل.
6. محمد، ألاء عبد الرحمن. دراسة مقارنة لبرامج التلقيح ضد مرض التهاب القصبات الخمجي في دجاج اللحم، رسالة ماجستير، فرع الاحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، ٢٠٠٧.
7. Darla JW and Gordan RC. Immunology. 1st ed. Iowa State University Press, 2002, pp:132.
8. Ian RT. Veterinary Immunology. 7th ed. Elsevier Publishing Company., USA. 2004, pp:181-197.
9. Roberts HD and Charles HM. Veterinary pathophysiology, Chapter (6). Black well Publishing. 2004, pp:177.
10. Siller WG and Cumming RB. The histopathology of an interstitial nephritis in the fowl produced experimentally with infectious bronchitis virus. J Pathol. 1974;114:163-173.
11. Albassam MA, Winterfield RW and Thacker HL. Comparison of the nephropathogenicity of four strains of infectious bronchitis virus. Avian Dis. 1986;30:468-476.
12. Purcell DA, Tham VL and Surman PG. The histopathology of infectious bronchitis of fowls infected with nephrotropic (T) stain of virus. Aust Vet J. 1976;52:85-91.
13. Robert HH. Pathology of kidney. 4th ed., Robert H. Heptinstall. 1992, 1315.
14. Smith HW, Cook A and Parsell SE. The experimental infection of chickens with mixtures of infectious bronchitis virus and E. coli. Gen Virol. 1997; 6:777-786.
15. Nakamura K, Cook JK, Otsaki K, Huggins MB, and Frazier JA. comparative study of respiratory lesions in two chicken lines of different susceptibility infected with infectious bronchitis virus, histology ultrstructural and immunohistochemistry. Avian Pathol. 1991;20:241-257.
16. Chousalkar KK, Roberts JR Reecet R. Comparative histopathology of two serotypes of infectious bronchitis virus (T and NI/88) in laying hens and cockerels. Poul Sci J. 2007; 86:50-58.
17. Gordan RF. Poultry Disease. Baillieretindall. London. 1977, P:111.
18. Marshal MS, Robison RM and Jensen MM. Use of an enzyme linked immuno-sorbant assay to measure Antibody Response in turkey Against pasteurilla multocida. Avian Disease. Vol 25, No(4), 1981 pp:964.

في هذه الدراسة اشارت نتائج الفحص النسيجي المرضي الى ان الافات المجهرية ظهرت عند عمر ٢٤ يوم بعثرة H120 عن طريق التقطير بالعين وتمثلت بازدياد سمك المخاطية وتحت المخاطية نتيجة لارتشاح اعداد من الخلايا احادية النواة ولاسيما الخلايا اللمفية وهذه النتيجة تتفق مع الباحث (٩) وهذا ما لوحظ في تجربته على الديكة الصغيرة العمر اعتباراً من اليوم الرابع بعد حقن عترة NI/88, T لفايروس التهاب القصبات الهوائية الخمجي في العين واستمرت هذه التغيرات حتى اليوم العاشر بعد الحقن وهو تاريخ انتهاء التجربة وكذلك تم تسجيله من قبل الباحثون (١٠-١٢) في الدجاج اعتباراً من اليوم الثالث بعد حقه عترة NI/88, T في العين الى اليوم الحادي والعشرون من الحقن، كما وتم تسجيل تغيرات مماثلة في القصبة الهوائية للافراخ الخالية من الممرضات الخاصة عند حقنهم في ملتحة العين بـ ٢٥ عترة من فايروس التهاب القصبات الهوائية الخمجي التي تم عزلها في استراليا خلال الفترة ١٩٦١ و ١٩٩٤ (١٢-١٤).

لم يلاحظ وجود تغيرات في الرئة في مجموعة الدجاج الملقحة بعثرة H120 للفترات ٣، ٦، ٩، ١٢ بطريقة التلقيح بالعين الا انه عند عمر ٢٤ يوم بعد اعطاء عترة H120 لوحظ تثخن في جدار القصية الهوائية النهائية نتيجة لحدوث الاحتقان وارتشاح اعداد من الخلايا احادية النواة ولاسيما الخلايا اللمفية وادى هذا التثخن الى تضيق جوف القصية الهوائية وانسدادها وهذا ما أكده الباحث (٢). وعند اليوم ٣٠ من عمر الأفراخ عند اعطاء عترة H120 عن طريق التقطير بالعين فقد لوحظ تثخن المخاطية وتحت المخاطية لجدار القصية الهوائية نتيجة لحدوث احتقان الأوعية الدموية وارتشاح كثيف للخلايا اللمفية في هذه الطبقات وهذا ما أكده (١٣).

أظهرت الكلية تغيرات مجهرية ابتداءً من اليوم السادس من عمر الافراخ وعن طريق التلقيح بعثرة H120 عن طريق التقطير بالعين وكانت على شكل ازدياد في خلوية الكبيبات الكلوية وتورم الخلايا الظهارية المبطنة للنيبات الكلوية الملفوفة الدانية مع ارتشاح اعداد كبيرة جداً من الخلايا الالتهابية احادية النواة في النسيج الخلالي وهذا ما اشار اليه (١٣). كما ادى اعطاء اللقاح عن طريق ماء الشرب الى ظهور التغيرات الكلوية عند عمر ٣٥ يوم والتي شملت ارتشاح اعداد كبيرة من الخلايا الالتهابية مع حصول التهاب الكبيبات الكلوية وهذه النتيجة مطابقة كما شار اليه (١٤). وسجل الباحثون (١٥) نخر تجلطي للنيبات الكلوية واحاطة هذه النيبات باعداد كبيرة من الخلايا الالتهابية واحتوت بعض النيبات على كمية قليلة من انقاض خلوية في اجوافها وهذه النتائج كانت بسبب استخدام الباحث لعنتر فيروس مرضي ضار غير مضعف تطابقت التغيرات المسجلة في هذه الدراسة الحالية مع الافات المسجلة في النشريات العلمية التي تضمنت وجود خبز محفظة بومان