

التأثير المناعي المثبط لفايروس مرض ميرك في الدواجن

مزاحم ياسين العطار

فرع الاحياء المجهرية ، كلية الطب البيطري ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

(الاستلام كانون الثاني ٢٨، ٢٠٠٤؛ القبول نيسان ١٠، ٢٠٠٤)

الخلاصة

تمت دراسة التأثير المناعي المثبط للاصابة التجريبية بفايروس مرض ميرك في فروج اللحم على مستوى المناعة المتكونة عند تلقيح حيوانات التجربة بلقاح مرض نيوكاسل وقد تم الكشف عن مستوى الاضداد المناعية باستخدام اختبار تثبيط التلازن الدموي ، حيث ظهرت نتائج هذا الاختبار انخفاض معيار الاضداد المتكونة ضد مرض نيوكاسل في المجموعة الاولى المصابة تجريبياً بفايروس مرض ميرك والتي جرى تلقيحها بلقاح نيوكاسل بالمقارنة مع المجموعة الثانية والتي اعطيت لقاح نيوكاسل فقط دون احداث الاصابة التجريبية بفايروس مرض ميرك ، كما استخدم اختبار التحدي للتأكد من مستوى الحماية التي احدثها لقاح نيوكاسل حيث تبين ان هذا اللقاح اعطى حماية بنسبة 50% في المجموعة الاولى بينما كانت تلك النسبة 90% في المجموعة الثانية عند استخدام فيروس مرض نيوكاسل الضاري كجرعة التحدي لكلا المجموعتين . وهذا يدل على ان الاصابة بفايروس مرض ميرك في الدواجن له تأثير سلبي على مستوى المناعة التي يحدثها لقاح مرض نيوكاسل في الدواجن .

IMMUNOSUPPRESSIVE EFFECT OF MAREK'S DISEASE VIRUS IN BROILER

M Y Al-Attar

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

ABSTRACT

The immunosuppressive effect of experimental infection of Marek's disease virus (MDV) , on the immune response to Newcastle disease vaccine (NDV) was studied in broiler .Haemagglutination inhibition test was used to evaluate the level of antibodies formation , the results show that clear decrease in antibodies titer against NDV was noticed in first group which experimentally infected with MDV then vaccinated with NDV in comparison to second group which only vaccinated with NDV .Challenge test was also used to confirm the protection level of NDV which lead to 50% protection level in first group but it was 90% in second group when virulent Newcastle . disease virus was used as challenge dose . These results indicate that the experimental infection of MDV in broiler had negative effect on the level of immunity formed by NDV .

المقدمة

يعتبر مرض ميرك الذي يصيب كلا من الدجاج البياض وفروج اللحم من الأمراض الفيروسية المهمة لما يسببه من خسائر اقتصادية فادحة متمثلة في نسبة الهلاكات التي يحدثها والتي تتراوح بين 30-55 % (1) وهذا المرض اثبت انتشاره في العراق في الدجاج البياض من خلال عزل الفيروس المسبب له وباشكاله المرضية المتعددة (الحشوي ، العصبي ، الجلدي ، والمختلط) وتم توصيف ودراسة امراضية احدى عشرة عزلة لهذا الفيروس متفاوتة في امراضيتها كما اثبتت امكانية احداث الاصابة التجريبية لهذا المرض في فروج اللحم . وقد لوحظ في الاونة الاخيرة تكرار حالات فشل التمنيع ضد مرض نيوكاسل في الدجاج البياض عند تزامنه مع الاصابة بمرض ميرك ، وقد ظهرت حالات مماثلة في فروج اللحم في عمر 6-12 اسابيع وهو العمر المناسب لحدوث مرض ميرك في فروج اللحم (2) لذلك اجريت هذه الدراسة لمعرفة اهمية التثبيط المناعي الذي تحدثه الاصابة التجريبية لفيروس مرض ميرك في فروج اللحم وعلاقته مع المناعة ضد مرض نيوكاسل .

المواد وطرائق العمل

تم استخدام 120 من افراخ فروج اللحم بعمر يوم واحد وقسمت الى اربعة مجاميع متساوية كل مجموعة تضم 30 فرخ وكما يلي :

المجموعة الاولى: اجريت الاصابة التجريبية لهذه المجموعة بعمر يوم واحد حسب الطريقة (3) وذلك بحقن الافراخ في المساريقي I/p بجرعة 0.1 مللتر من فيروس ميرك الضاري بمعيار 10^4 EID50/0.1ml والذي تم الحصول عليه من مختبر الفيروسات /كلية الطب البيطري / جامعة الموصل ، وبعد ذلك لقحت هذه الافراخ بلقاح مرض نيوكاسل الحي المضعف نوع لاسونا عن طريق ماء الشرب بعمر 7 ايام ، 21 يوم ، 35 يوم وجرعة لقاحية واحدة لكل دليبر بمعيار 10^6 EID50/0.1ml .

المجموعة الثانية: استخدم نفس برنامج التلقيح ضد مرض نيوكاسل في المجموعة الاولى دون احداث الاصابة التجريبية بفيروس مرض ميرك .

المجموعة الثالثة: اجريت لها اصابة تجريبية بفيروس مرض ميرك الضاري كما في المجموعة الاولى دون اعطاء أي لقاح نيوكاسل .

المجموعة الرابعة: لم تعامل حيوانات هذه المجموعة بأي فيروس او لقاح .
الاختبارات المناعية :

أ_ اختبار تثبيط التلازن الدموي : اجري هذا الاختبار على عينات المصل التي جمعت بعمر 1،7،14،21،28،35،42 يوماً لجميع حيوانات التجربة حسب طريقة (4) للكشف عن مستوى الأضداد لمرض نيوكاسل.

ب_ اختبار التحدي : استخدم فيروس مرض نيوكاسل الضاري الذي تم الحصول عليه من مختبر الفيروسات /كلية الطب البيطري ،جامعة الموصل بمعيار 10^7 EID50/0.1ml وجرعة 1 مللتر /طير بالعضلة لجميع المجموعات بعمر 42 يوم وتم متابعة جميع حيوانات التجربة لمدة اسبوع كامل بعد إجراء التحدي (5) .

ج- اختبار الترسيب في هلامة الاكار (AGDT) : استخدم هذا الاختبار لفحص اصصال جميع الحيوانات بعمر 42 يوم للكشف عن الاجسام المناعية المضادة لمرض ميرك باستخدام فيروس مرض ميرك الضاري (6).
الفحص العياني : تم متابعة جميع حيوانات التجربة يومياً طوال فترة التجربة لملاحظة أي تغيرات مرضية عيانية واجراء الصفة التشريحية للهالك منها.

النتائج

اولاً / الاختبارات المناعية :-

أ- اختبار تثبيط التلازن الدموي:

اظهرت نتائج اختبار تثبيط التلازن الدموي تكونا للاجسام المضادة لفيروس نيوكاسل في جميع حيوانات التجربة ولكن بمعيار متفاوت حسب العمر والمجموعة ، حيث بلغت قيمة المناعة الامية بعمر يوم واحد ($3\log 2$) لكل المجاميع واستمرت هذه القيم بعمر 7 يوم ثم ارتفعت بعمر 14 يوم لتصل ($4\log 2$) في المجموعة الاولى والثانية بينما انخفضت في المجموعة الثالثة الى ($2\log 2$) اما في عمر 21 يوم فقد وصل المعيار الى اقصى قيمة له ($6\log 2$) في المجموعة الثانية في حين كان ($5\log 2$) في المجموعة الاولى والتي استمر الانخفاض في معيار الاجسام المناعية المضادة لمرض نيوكاسل فيها حتى عمر 42 يوم حيث بلغ ($3\log 2$) بينما بقي المعيار بقيمة ($6\log 2$) في المجموعة الثانية حتى عمر 42 يوم فيمل كان ذلك تمعيار صفر في المجموعتين الثالثة والرابعة من عمر 28-42 يوم مما يدل الى انتهاء المناعة الامية والذي حدث بشكل مبكر في المجموعة الثالثة بالمقارنة مع المجموعة الرابعة (جدول 1) .

ب- نتائج اختبار التحدي بفيروس نيوكاسل الضاري :

بلغت نسبة الحماية التي احدثها برنامج التلقيح ضد مرض نيوكاسل 50 % في المجموعة الاولى (المصابة تجريبياً بمرض ميرك) بينما وصلت هذه النسبة 90 % في المجموعة الثانية (غير المصابة تجريبياً بمرض ميرك) بينما كانت نسبة الحماية صفر في المجموعتين الثالثة والرابعة كما لوحظ بان حيوانات المجموعة الثالثة اظهرت تفاعلات هضمية بشكل اوضح واكثر شدة في المجموعة الرابعة (السيطرة السالبة) (جدول رقم 2) .

ج- نتائج اختبار الترسيب في هلامة الاكار :

اظهرت نتائج هذا الاختبار تكون خط ترسيبي واضح بين مستضد فيروس ميرك والمصل المفحوص لحيوانات المجموعة الاولى والثالثة فقط مما يدل على ايجابية نمو فيروس ميرك في كلتا المجموعتين عند اجراء هذا الاختبار بعمر 42 يوم .

ثانياً / نتائج الفحص العياني :

لوحظت علامات الخمول وفقدان الشهية لالكل منذ الاسبوع الثالث لحيوانات المجموعتين الاولى والثالثة وهي من العلامات المصاحبة للاصابة بمرض ميرك .

جدول (1) نتائج اختبار تثبيط التلازن الدموي

العمر بالايام	1	7	14	21	28	35	42
المجموعة الاولى	3	3	4	5	4	4	3
الثانية	3	3	4	6	5	6	6
الثالثة	3	3	2	0	0	0	0
الرابعة	3	3	3	2	0	0	0

$$HI\ Titers = \log^2$$

جدول (2) نتائج اختبار التحدي بفيروس النيوكاسل الضاري

الاعضاء المجموعة	الدماغ	المعدة الغدية	الوزن الاعورية	الاثني عشري	عدد الهلاكات	نسبة الحماية
الاولى	+	+	++	++	10\5	50 %
الثانية	-	+	+	+	10\1	90 %
الثالثة	+++	+++	++++	++++	10\10	0 %
الرابعة	+++	+++	+++	+++	10\10	0 %

المناقشة

يعتبر مرض ميرك في فروج اللحم من الامراض التي يصعب تشخيصها لتداخل علاماته المرضية مع امراض اخرى كثيرة مثل نيوكاسل والاصابات الهضمية الجرثومية وبما يعقد التشخيص وجود ضروب مصلية لفيروس ميرك متفاوتة في الضراوة وقد صنف هذا الفيروس حديثاً بتسمية جديدة للضرب المصلي (Gallid herpes virus 2) ضمن عائلة الهيريس (7) لذلك بقي هذا المرض بعيداً عن التشخيص خصوصاً وانه يظهر في عمر ستة اسابيع فاكثر مما يتداخل مع عمر ظهور مرض نيوكاسل والاصابات الجرثومية ثم يقترب من عمر الذبوق فيبقى بعيداً عن التشخيص الدقيق بالاضافة الى تميز فيروس ميرك باحداثه للاصابة الكامنة (8) . وقد لوحظ ان الاصابة التجريبية لفيروس مرض ميرك في المجموعة الاولى قد اثرت سلباً في مستوى المناعة ضد مرض نيوكاسل من خلال الانخفاض الواضح في معيار الاضداد بالمقارنة

مع نتائج المجموعة الثانية التي لم تحدث فيها الإصابة التجريبية بفيروس مرض ميرك مما يشير إلى دور الإصابة التجريبية في حدوث هذا الانخفاض في معيار الاضداد ولغرض التأكد من الكفاءة المناعية للقاح نيوكاسل وتأثر ذلك بالإصابة التجريبية استخدم اختبار التحدي الذي يعتبر أفضل وسيلة لقياس الكفاءة المناعية للقاحات (9) وقد تبين من خلال اجراء هذا الاختبار ان نسبة الحماية التي وفرها لقاح نيوكاسل كانت 50 % في المجموعة الاولى بينما كانت 90 % لسي المجموعة الثانية غير المصابة تجريبيا بفيروس ميرك مما يدل على اهمية الإصابة بفيروس ميرك في احداث التثبيط المناعي ضد مرض نيوكاسل ، وتتفق هذه النتائج مع ما ذكره

(10) بان نسبة الحماية ضد مرض نيوكاسل في المجموعة المصابة تجريبيا بمرض ميرك قد اصبحت 73 % بعد ان كانت 100 % في مجموعة السيطرة غير المصابة بمرض ميرك . وقد تم اجراء اختبار التحدي في عمر 42 يوم لاعطاء فرصة كافية لتكون المناعة ضد نيوكاسل بعد ثلاثة تلقحات متتالية واعطاء فرصة ايضا لنمو فيروس ميرك وهذا بتطابق مع ما ذكره (11) وقد يكون السبب في حدوث التثبيط المناعي لخاصية فيروس ميرك بحدوثه الإصابة الكامنة وتأثيره على خلايا T من نوع CD-4(12,13) .

كما ان هناك عوامل اخرى قد تحدث التثبيط المناعي مثل الإصابة بفيروس ادينو الدوجن (14) وكذلك تأثير السموم الفطرية (15) الان وقت الإصابة لهذه الحالات يكون في اعمار صغيرة ويسهل كشفها وتجنبها بينما يكون تأثير الإصابة بمرض ميرك في عمر متقدم مما يؤدي إلى حدوث خسائر اقتصادية اكبر لذلك اهتم الباحثون بالسيطرة على مرض ميرك بتلقيح اجنة البيض قبل الفقس بثلاثة ايام لمنع حدوث هذا المرض واثاره المثبطة (16) بالإضافة إلى جهود سندن بحقن هجين كلا الفيروسين ميرك و نيوكاسل في اجنة البيض للسيطرة على كلا المرضين في ان واحد (17,18,19) .

المصادر

- 1- Payne, L.N. Marek's disease Martinus - Nijhoff publishing , Boston USA, 1985 .
- 2- العطار ، مزاحم ياسين . عزل ودراسة امراضية فيروس مرض ميرك في الدواجن . اطروحة - دكتوراه ، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل 1997
- 3- Witter, R.L., Characteristics of Marek's disease virus isolated from vaccinated commercial chicken flocks : Association of viral pathotype with lymphoma frequency. Avian Diseases :1983 :27(1) p.110-131.
- 4- Gould E A& Clegg JCS. Growth titration & purification of Alphaviruses Flaviviruses in Virology . A practical approach mahy BW (ED) Iri Press , Oxford,1987. pp.56-67.
- 5- Palitse R, Halvorson D A, Sivanandan, V. Efficacy of combined killed- in oil emulsion & live Newcastle disease vaccines in chickens , Avian Dis.1998. 42:173-178.
- 6- Pearson, J.E. Protocol for the immunodiffusion (GoGGins) test for equine infectious anemia Amer Asso Vet Lab. Diagnostics 22nd annual proceeding 1979. pp.449-462 .
- 7- Quinn P.J, Markey B K, Carter M E, Donnelly W J C, Leonard F C. Veterinary microbiology & microbial diseases .2003.Blackwell, Science Ltd.

- 8- Calnek, H W, Shek W R, Schat K A. Latent infections with Marek's disease virus & Turkey herpes virus, J Natl Ins. 1981; 66: 585-590.
- 9- Jungback C, Frinkler H, Replacement of challenge procedures in the evaluation of poultry vaccines. Dev Biol Stand, 1996; 86:157-163.
- 10- Morgan, R, W; Gelb, J, Jr; Pope, C, R; Sondermeijer, P, J. Efficacy in chickens of a herpes virus of Turkeys recombinant that seen containing the fusion gene of Newcastle disease virus: Onset of protection & effect of maternal antibodies. Avian Dis. 1993; 37(4):1032-40.
- 11- Patrascu I. V. Marek's disease XX - incidence & epizootiology of MD in broiler flocks. Revue, Roumaine: Med Viro. 1989; 40 : 125-128.
- 12- Morimura T, Hattori M, Ohashi K, Sngimoto, Conums M. Immunomodulation of peripheral T cell in chickens infected with Marek's disease virus. Involvemental in immunosuppression J Gen Viral 1995; 76 : 2979-2985.
- 13- Quinn F J, Markey B K. Concise review of veterinary microbiology. Blackwell Publishing Ltd. 2003 pp.101
- 14- العطار، مزاحم ياسين، دانيال، فنار ابلحد، البارودي، صفوان يوسف. التأثير الناعي المثبط لفيروس ادينو الدواجن على الكفاءة المناعية للقاح مرض نيوكاسل في افراخ اللحم. المجلة العراقية للعلوم البيطرية 2004؛ 18 : 39-44
- 15- Ibrahim IK, Shareef A AL, Joubory KMT. Ameliorative effects of sodium bentonite on phagocytosis & Newcastle disease antibody formation in broiler chickens during aflatoxicosis. Vet Sci. 2000; 69 : 119-122.
- 16- Ricks CA, Avakian A, Bryan T. In: Ovo vaccination technology in advances in Vet Med. 1999; 41: 495-515.
- 17- Reddy S K, Sharma JM, Ahmad J, Reddy DN, McMillent JK, Shwartz RD. Protective efficacy of a recombinant herpes virus of turkeys as an in ovo vaccine against Newcastle & Marek's diseases in specific pathogen free chickens vaccine 1996.11 :6: 469-477.
- 18- Sakaguchi M, Nakamura H, Sonoda K, Yokogawa K, Matsuo K, Hira K. Protection of chickens with or without maternal antibodies against both Marek's and Newcastle disease by one-time vaccination with recombinant vaccine of Marek's disease virus type 1. Vaccine. 1998; 6 (5):472-479.
- 19- Gagic M, St-Hill CA, Sharma JM, In ovo vaccination of specific-free chickens with vaccines containing multiple agents. Avian Dis. 1999; 43 (2):293-301.