تأثير اختلاف نوع خلايا الدم الحمراء ودرجة الحرارة على تلازن فايروس نيوكاسل الدواجن

أنوار زكي داؤد
كلية الطب البيطري / جامعة الموصل

الخلاصة

تم دراسة تأثير اختلاف نوع خلايا الدم الحمراء ودرجة الحرارة على تلازن فايروس paramyxo المسبب لمرض نيوكاسل الدواجن حيث بينت النتائج قدرة هذا الفايروس (العترة اللقاحية) على إحداث التلازن مع خلايا الدم الحمراء المأخوذة من الدجاج ، الرومي وفصيلة (O) للإنسان خلال ٣٠ دقيقة وبمعيار ١:٦٤ والأبقار ، الأغنام ، الحمام والجرذان خلال (٤٥) دقيقة وبمعيار ١:١٦ والخيول والجاموس كانت ضعيفة وبعد مرور ٩٠ دقيقة وبمعيار ١:٤ وقد تفاوت معيار التلازن بالنسبة لخلايا الدم الحمر للدجاج مع الفايروس من ١:٦٤عند درجة حرارة المختبر ٢٨ م° الى ١:٨ عند درجة حرارة الثلاجة ٤ م° ولكنها أعطت ١:١٦ عند درجة حرارة الحاضنة ٣٧ م° .

المقدمة

يتصف فايروس paramyxo المسبب لمرض النيوكاسل بقدرته على احداث التلازن الدموي ويمكن اجراء هذه الخاصية مختبريا في الانابيب أو الاطباق البلاستيكية حيث تتكون شبكة حمراء في قعر الانبوب او الطبق ويحدث التلازن الدموي نتيجة للالتصاق الفايروسي على سطح الخلايا الحمراء وتجدر الاشارة الى ان الخلايا الحمراء تختلف عن باقي الخلايا النسيجية في كونها لا تخترق من قبل الفايروس المتلصق ولا تصاب بالخمج (١،٢،٣،٤،٥) التلازن الدموي يحدث بمرحلتين الأولى تسمى بالتلازن Haemagglutnation وتتمثل بارتباط الفايروس على سطح خلايا الدم الحمراء بفعل اللزائن الدموية(Haemagglutinin) على سطح الفايروس والمرحلة الثانية تتمثل بتحرر الفايروس من على سطح خلايا الدم الحمراء بفعل خميرة النيورامينيديز(Neuraminidase). وهذه تسمى بالتحرر Elution .تفرق النتيجة موجبة بتكوين شبكة حمراء في قعر انبوبة الاختبار او في قعر حفر طبق التلازن اما النتيجة السالبة تتمثل بتكوين كتلة متراصة من خلايا الدم الحمراء مع بعضها في قعر الطبق (٥،٦،٧،٨،٩). يحدث التلازن الدموي خلال فترة ٣٠ دقيقة وقد تمتد الفترة الى ٢٤ ساعة بالاعتماد على نوع العترة ونوع خلايا الدم الحمراء المأخوذة من الحيوان فخلايا الدم الحمراء للبرمائيات والزواحف والطيور تلزن فايروس نيوكاسل الدواجن اما خلايا الدم الحمراء للماشية والاغنام والماعز والخنازير والخيول تلزن بعض عتر الفايروس المسبب لنيوكاسل الدواجن وليس جميعها وتؤثر درجة الحرارة والاشعة فوق البنفسجية كذلك على قابلية الفايروس على احداث التلازن الدموي (٣،٥،٧،١٠،١١،١٢). أن الهدف من هذه الدراسة هو لمعرفة قدرة فايروس النيوكاسل العترة اللقاحية (Lasota) الضعيفة الضراوة على تلزين خلايا الدم الحمراء لانواع مختلفة من الحيوانات واكثر انواع هذه الخلايا قدرة على التلازن مع هذه العترة كذلك معرفة تأثير اختلاف درجة الحرارة على حدوث عملية التلازن.

المواد وطرائق العمل

عينات الدم :

تم جمع عينات الدم باستخدام مانع التخثر (EDTA) وبصورة عشوائية لانواع مختلفة من الحيوانات ضمت الخيول ، الأبقار ، الجاموس ، الأغنام ، الحمام ، الرومي ، الدجاج ، الجرذان كذلك فصيلة (O) من دم الانسان وبمعدل خمسة عينات لكل نوع .

عترة الفايروس:

استخدمت عترة اللقاح الحي المضعف (لاسوتا) في اجراء اختبار التلازن الدموي ومن نوع (Lohman animal Health Gmbh and Co. KG Germany)، ($10^{7.1}$ EID_{50}).

اختبار التلازن الدموي : Haemagglutination test

استعملت التقنية الدقيقة Micromethod باستخدام الاطباق الدقيقة Microplate لمعابرة الفايروس بطريقة التخفيف الثنائي حيث وضع في جميع الحفرالملح الفسيولوجي وبمقدار (٠.٠٥) مل بواسطة الماصة الدقيقة (Micropipate) ثم يوضع في الحفرةالأولى فقط (٠.٠٥) مل من عترة اللقاح (لاسوتا) ويتم عمل التخفيف الثنائي لها حيث يمزج ثم ينقل الى الحفرة الثانية بمقدار(٠.٠٥) مل وهكذا الى الحفرالمتتالية وبعد تخفيف الحفرة الاخيرة يهمل ما تبقى بالماصة بمقدار(٠.٠٥) مل ثم يضاف معلق خلايا الدم الحمراء بمقدار (٠.٠٥) مل الى كل الحفر حيث يحضر عن طريق غسل خلايا الدم الحمراء باستعمال الملح الفيسولوجي بوساطة جهاز الطرد المركزي بسرعة ٢٠٠٠ دورة /دقيقة لمدة خمسة دقائق ثلاث مرات

ثم يؤخذ الراسب من اخر مرة ويخفف بنسبة ١% كذلك يتم عمل حفرتي سيطرة الاولى ٠.٠٥ مل من الملح الفيسلوجي مع ٠.٠٥ مل من معلق خلايا الدم الحمراء والثانية ٠.٠٥ مل من عترة اللقاح المخفف مع ٠.٠٥ مل من معلق خلايا الدم الحمراء ثم يرج الطبق رجا" خفيفا" بوساطة الضرب بين راحتي اليد ثم يترك في درجة حرارة المختبر ٢٨ م ° لمدة (٣٠ – ٩٠) دقيقة ويقرأ معيار التلازن الدموي للفايروس اللقاحي والمتمثل بالتلازن الدموي الذي يحصل في اعلى تخفيف وقد تم اجراء هذا الاختبار ايضا" باستخدام خلايا الدم الحمراء للدجاج فقط عند درجات حرارة مختلفة ضمت درجة حرارة المختبر ٢٨ م ه ، درجة حرارة الثلاجة ٤ م ه ودرجة حرارة الحاضنة ٣٧ م ه (١ ، ٢).

النتائج

لقد اظهرت نتائج هذا البحث قدرة فايروس النيوكاسل (لاسوتا) على التلازن الدموي لخلايا الدم الحمراء لكل من الدجاج ، الرومي وفصيلة O للانسان بدرجة عالية وبمعيار ١:٦٤ بعد مرور ٣٠ دقيقة من زمن الاختبار بينما كانت قدرته على تلزين خلايا الدم الحمراء لكل من الأبقار ، الأغنام ، الحمام والجرذان بدرجة اقل وبمعيار١:١٦ بعد مرور (٦٠)دقيقة من زمن الاختبار كما كانت قدرة الفايروس ضعيفة على تلزين خلايا الدم الحمراء للخيول والجاموس حيث كانت ١:٤ وذلك بعد مرور ٩٠ دقيقة من زمن الاختبار وكما مبين في الجدول (١) اما قدرة فايروس النيوكاسل(لاسوتا) على تلزين خلايا الدم الحمراء للدواجن فقد تفاوتت ما بين ١:٦٤ عند درجة حرارة ٢٨ م ه وهي درجة حرارة المختبر و ١:١٦ عند درجة حرارة الثلاجة ٤ م ْ والى ١:٨ عند درجة حرارة الحاضنة ٣٧ م ه وكما مبين في الجدول (٢).

جدول (١) قابلية التلازن الدموي لفايروس النيوكاسل مع انواع مختلفة من خلايا الدم الحمراء

نوع خلايا الدم الحمراء	معدل معيار التلازن	زمن التلازن / دقيقة
دجاج	١:٦٤	٣٠
رومي	١:٦٤	٣٠
فصيلة O للانسان	١:٦٤	٣٠
حمام	١:١٦	٤٥
أبقار	١:١٦	٤٥
أغنام	١:١٦	٤٥
جرذان	١:١٦	٤٥
خيول	١:٤	٩٠
جاموس	١:٤	٩٠

جدول (٢) قابلية التلازن الدموي لفايروس النيوكاسل مع خلايا الدم الحمراء للدواجن عند درجات حرارة مختلفة

درجة الحرارة	معيار التلازن
درجة حرارة المختبر ٢٨ م ه	١:٦٤
درجة حرارة الثلاجة ٤ م ه	١:١٦
درجة حرارة الحاضنة ٣٧ م ه	١:٨

المناقشة

تتصف عترات فايروس Paramyxo بقابليتها على احداث تلازن خلايا الدم الحمراء من مختلف انواع الحيوانات ومن الدواجن وغالبا ما يستعمل لاجراء هذا الاختبار خلايا الدم الحمراء من الدجاج او خلايا دم الانسان زمرة (O) نتيجة للارتباط الحاصل مابين الزائن الدموية على سطح الفايروس ومستقبلاتها على سطح خلايا الدم الحمراء (١ ، ٢) من الضروري عند التعامل مع الفايروسات الالمام بالعوامل الفيزياوية والكيمياوية المؤثرة على الفايروسات وبالتالي على صفاتها البايولوجية للتوصل الى افضل الطرق للحفاظ على الفايروسات مختبريا" بعد عزلها من العينات السريرية والتعرف على افضل الظروف المناسبة لخزن اللقاحات الفايروسية الحية لكي لا تتعرض للابطال او تنخفض فاعليتها(2 , 9 , 10 , 11) ان الهدف من هذه الدراسة هو التعرف على احد الصفات البايولوجية المميزة للفايروس وهي صفة التلازن الدموي لكريات الدم الحمراء المأخوذة من عدة انواع من الحيوانات ومن خلال استخدام العترة

اللقاحية (لاسوتا) الضعيفة الضراوة حيث تباينت النتائج على قدرة هذه العترة على احداث التلازن من المعيار 1:64 خلال ٣٠ دقيقة الى معيار 1:4 خلال ٩٠ دقيقة مع اختلاف نوع الحيوان المأخوذة منه خلايا الدم الحمراء وحسب الجدول (١) وهذا يتفق مع ما جاء به(١ ،٢ ، ٣ ، ٤ ، ١١ ،١٢) وقد تختلف هذه النتائج حينما تؤثر عوامل اخرى تتدخل في إجراء هذا الاختبار حيث ان خاصية التلازن الدموي التي يمتاز بها فايروس النيوكاسل تحددها عدة عوامل اضافة الى نوع الحيوان المأخوذة منه خلايا الدم الحمراء منها ضراوة العترة الفايروسية ، وجود عوامل فيزياوية وكيمياوية مؤثرة على العترة الفايروسية كذلك درجة حرارة الاختبار عند اجراء اختبار التلازن الدموي حيث اعطت نتيجة الاختبار اعلى معيار1:64 عند درجة حرارة المختبر واقلها في درجة حرارة الحاضنة 1:8 وهذا يشير الى تأثير درجة حرارة الاختبارعلى التلازن الدموي التي يعطيها فايروس النيوكاسل وهذا يتفق مع ما ذكره(٥ ، ٩ ، ١٠ ، ١١ ، ١٢).ومن هذه الدراسة نستنتج قدرة فايروس النيوكاسل (العترة اللقاحية لاسوتا) على احداث تلازن خلايا الدم الحمراء لانواع مختلفة من الحيوانات وبدرجات مختلفة كما ان التلازن الذي تحدثه هذه العترة مع خلايا الدم الحمراء للدجاج يتأثر بدرجات حرارة مختلفة .

المصادر

1. Johnwily, and sons, (2007). Fundamental of Molecular Virology.
2. Quinn ,PJ .; Markewy ,BK.; Carter, ME .; Donnelly, JC.; Leonard, FC. (2002). Veterinary Microbiology and Microbial; Black Well Publishing combany , UK.
3. Alexandre, DJ. (1990). Avian Paramyxo Viridae – recent development Vet. Microbial. 23 ; 3 – 114.
4. Alexandre, DJ.(1988). Newcastle disease. Kulwer Acad. PubsBoston.
5. Saif, ym .(2003). Disease of Poultry 11ed , Iowa state. Black Well Publishing combany , UK.
6. Beard, CW.; Hansan, RP.(1984). Newcestle disease In: Disease of Poultry.(Ed. Hostad, M. S.). Iowa – state Un. V.Press Ames.
7. Wilson, G.; Miles, A.; Parker, MT.(1984).Toply and Wilson's, Principles of bacteriology, Virology and Immunity 7ed. Vol . 4 , E dward.
8. Szentiany, A.; Friedmen ,H.(1986). Viruses, Immunity and Immunod efficiency, plenumpress. New york, USA.
9. AL-Attar, MY. (2007). Effect of ultraviolet and ultrasound on Newcastle disease virus. Iraq. J of vet Sc. 21 ; 2: 185 – 192.
10. Sellers, RE .(1984). The paramyxo Viridae in principle of bacteriology , Virology and immunity . Toply and witson's (Eds) Edward Amold. London (Publisher). 4; 376 – 384.
11. Anant, Rai .(2005). Methods, Veterinary Uirology, Indian veterinary Research institute Izatnegar, Baveilly 243122 (U. P.).
12. Hassan, A.; Bo. Ogmerifard ,MH. (2004). Aserology: Calstuety of Newcastle disease in pre and post vaccination village chickens in north of Iran. international Journal of poultry science. 3 (10);. 58 – 661

Effect of different types of RBCS and temperature on haemagglutination of NDV

A. Z. Daewd
Coll. of Vet. Med. / Univ. of Mosul

Abstract

The effect of different types of red blood cells and temperature on haemagglutination of Paramyxo that cause Newcastle disease virus (vaccinal strain) Lasota was studied. Results showed that the titer of vaccinal strain in haemagglutination test with red blood cells of chicken, turkey and (O) blood group of were 1:64 after 30 minutes and 1:16 in Cattle , sheep and rate through (45) minutes , In horse and buffalo 1:4 after 90min . The effect of temperature on haemagglutination of Newcastle dense virus with chicken red blood cells showed the titer 1:64 in room temperature at 28°C and 1:8 in refrigerator temperature at 4°C but give the titer of 1:16 incubator temperature at 37°C .