المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد ٢٣، عدد إضافي ١، ٢٠٠٩ (٢١-٢٦)
وقائع المؤتمر العلمي الخامس، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل

عزل وامراضية فايروس جدري الأغنام في محافظة نينوى

صفوان يوسف البارودي

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

الخلاصة

تم خلال هذه الدراسة عزل فايروس جدري الأغنام من سبعة مناطق من محافظة نينوى من حالات أغنام بمختلف الأعمار ولكلا الجنسين، تمت تنمية هذه العزلات على الغشاء اللقانقي المشيمي لأجنة بيض الدجاج حيث أظهرت إحدى هذه العزلات قابليتها على النمو في حين لم تظهر باقي العزلات نموا عليها و استدل على قابلية النمو بوجود أفات وهلاكات في الأجنة وظهور البثور على الغشاء اللقانقي المشيمي. ولغرض تشخيص العزلة الفايروسية تمت معادلة العزلة مع المصل المناظر لها والمصل عالي التمنيع لفايروس جدري الأغنام وعلى أجنة بيض الدجاج أيضا حيث تبين انخفاض المعيار ألحجمي للعزلة مع المصل عالي التمنيع وانخفاض المعيار ألحجمي للعزلة بصورة اكبر أثناء معادلتها بالمصل المناظر لها.كذلك جرى تقييم قدرة العزلة على إحداث الامراضية وذلك بحقنها في الجلد في الحملان حيث أعطت العزلة أفات مبكرة تمثلت بالبثور في أنحاء عديدة من الجسم مترافقة مع ارتفاع درجة الحرارة وهلاكات كما أعطت العزلة أثناء إحداث الإصابة التجريبية معيارا مرتفعا للأضداد وذلك باستخدام اختبار التعادل المصلي.

Isolation and pathogenesis of sheep pox virus in Nineveh governorate

S. Y. Al-Baroodi

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

Abstract

Sheep pox virus was isolated from seven various regions in Nineveh governorate from cases infected with sheep pox virus with different ages and both sex. These isolates were Cultivated on Chorioallantoic membrane of embrynated chicken eggs, one of these isolate showed typical lesions (pock lesion), death of embryo, while the other isolates did not showed any lesions in embryonated chicken eggs. The diagnosis of the isolate were done by neutralization of the isolate with hyper immune serum of sheep pox virus and convalsant serum in the embryonated chicken eggs the result show decrease the titer when neutralized with hyper immune serum of sheep pox virus and higher decrease in the titer of isolate when neutralized with the convalsant serum. To known the capability of the growing isolate for induce pathogenecity, the isolate was injected intradermally in lambs, the isolate showed cutaneous lesions in different regions in the body with increasing of body temperature and death. The isolate gave high titer of antibody in the experimental infection by using serum neutralization test.

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

المقدمة

يعتبر مرض جدري الأغنام من الأمراض المستوطنة في العراق واحد أهم الأمراض الفايروسية التي تصيب الأغنام والماعز، حيث يسبب خسائر اقتصادية هائلة ناجمة عن نقص في إنتاج الحيوانات من حيث إنتاج اللحم والصوف وكما يسبب هلاكات قد تصل إلى ٨٠٪ في الحملان الرضيعة والأغنام المستوردة حديثا (١).

المسبب المرضي هو فايروس جدري الأغنام Sheep pox وهو احد أفراد عائلة الجدري Poxviridae، فايروس الجدري يأخذ شكل قوالب الطابوق ويبلغ حجمه ٢٥٠ نانوميتر يحاط بغشاء خارجي يحصر بداخله المادة النووية (ثنائي الخيط للحامض النووي منقوص الأوكسجينDNA) (٢).

يتميز مرض جدري الأغنام بظهور أفات جلدية وفي بعض الأحيان أفات تنفسية والتي تكون ناجمة عن دخول الفايروس عن طريق المجرى التنفسي، وينتقل المرض عادة عن طرق التماس المباشر بين الحيوانات السليمة و المصابة أو عن طريق الحشرات إذ تعتبر ناقل ميكانيكي (٣).

فترة الحضانة للمرض تتراوح بين ٥-١١ يوم وتشمل الأعراض ارتفاع درجة الحرارة، انتفاخ جفون العينين، ظهور إفرازات مخاطية من العينين والأنف، سيولة اللعاب، ضيق في التنفس، احتقان الأغشية المخاطية وفقدان في الشهية، وبعد مرور ٥-٧ أيام من الإصابة تبدأ بثرات الجدري Macule في الظهور بشكل بثرات حمراء اللون دائرية الشكل في المناطق العارية من الصوف مثل الالية ومن ثم تنتشر إلى الشفتين، طاقتي الأنف، حول العينين، الخدين، الأذن الخارجية وعلى الجانب الداخلي للقوائم ثم تتحول هذه البثرات بعد يومين إلى حليمات أو حطاطات منتفخة papules منتظمة ومسطحة ومن ثم ترتفع عن سطح الجلد لتصبح عقد Nodule والتي تحتوي على سائل بداخلها لتنفجر بعد ذلك مكونة بثور Pustule ومن ثم تجف لتتحول إلى قشور Scabs تسقط هذه القشور فيما بعد لتترك ورائها ندب Scars (٤).

لجدري الأغنام شكلين الشكل الأول يسمى الشكل الحميد أو الخفيفMild form ويكون هذا الشكل الأكثر شيوعا ويكون غالبا بشكل تقرحات جلدية وخصوصا في الالية (٥) في حين يسمى النوع الثاني بالشكل الخبيث Malignant form ويكون هذا النوع شائعا في الحملان الصغيرة العمر حيث يتميز بظهور تقرحات في معظم أجزاء الجسم وخصوصا في المناطق الخالية من الصوف فضلا عن الغشاء المبطن للقناة الهضمية والتنفسية مسببا هلاكات عالية (٦).

جرت محاولات عديدة في العراق لعزل هذا الفايروس وإنتاج لقاح وأعطت مستوى حماية جيدة إلا أن هذه العتر تعرضت للتلف لأسباب فنية، وبالرغم من استيراد لقاحات وبعتر مختلفة ولشركات عالمية معروفة إلا أن مرض جدري الأغنام ما زال يهدد الثروة الحيوانية في العراق.

لذلك تضمنت هذه الدراسة في إمكانية تنمية فايروس جدري الأغنام والمعزول من إصابات باستخدام أجنة بيض الدجاج مع ملاحظة الآفات التي يسببها فيها، وكذلك إجراء إصابة تجريبية بهذه العزلات في الأغنام وملاحظة الآفات العيانية عليها.

المواد وطرائق العمل

الفحوصات السريرية

تمت متابعة حصول حالات إصابة بجدري الأغنام في سبعة قطعان في محافظة نينوى، حيث تم فحص الحيوانات المصابة وجمع الدم منها للحصول على المصل بعد ذلك تم اخذ تاريخ الحالة، ثم تم اخذ أجزاء من البثور المنتشرة في جسم الحيوان وفي بعض الأحيان تم إجراء الصفة التشريحية واخذ أجزاء من الرئة وضعت هذه النماذج في قناني زجاجية معقمة تحتوي على الكليسرين مع محلول دارئ الفوسفات بتركيز ٥٠٪ وضعت هذه العينات في حاوية حفظ العينات ونقلت بالسرعة الممكنة إلى مختبر الفايروسات، فرع الأحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل وتم حفظها في -٢٠ °م (٧).

تحضير النماذج المرضية

اتبعت الطريقة التي ذكرها (٨) في تحضير النماذج المرضية والمتمثلة ب(القشور) ولكل حالة على حدى حيث تم اخذ ١ غرام من النموذج ووضع في هاون خزفي وتمت عملية السحن بإضافة الرمل الزجاجي المعقم ومحلول دارئ الفوسفات المتعادل استمرت عملية السحن ومن ثم اخذ المزيج ووضع في أنابيب زجاجية معقمة وضعت هذه الأنابيب في جهاز الطرد المركزي المبرد ٢٥٠٠ دورة /دقيقة ٤ °م لمدة ١٠ دقائق أهمل الراسب ومن ثم أضيف للراشح المضادات الحياتية بمقدار ١٠٠٠٠ وحدة دولية/سم٣ من البنسلين البلوري و ١٠ ملغم /سم٣ تركت الأنابيب لمدة ١٠ دقائق، حفظت بعدها في -٢٠ °م لحين إجراء عملية العزل الفايروسي عليها.

عزل وتنمية الفايروس على أجنة بيض الدجاج

تمت عملية العزل باستخدام أجنة بيض الدجاج المحلي، حيث حقنت الأجنة بعمر ١١ يوما على الغشاء اللقانقي المشيمي استمرت عملية التنمية لأربع تمريرات تمت خلال كل تمريرة متابعة وقت موت الأجنة مع تسجيل الآفات العيانية الظاهرة على الأجنة وأغشيتها مع إجراء عملية معايرة العزلات لكل تمريرة (٩).

تشخيص العزلة الفايروسية

تم إتباع طريقة (١٠) حيث تم إجراء تخافيفا ثنائية لكل من المصل عالي التمنيع لفايروس جدري الأغنام والذي تم تحضيره مسبقا باستخدام لقاح جدري الأغنام وأمصال الحيوانات المصابة ثم أضيف أليها كمية ثابتة من العزلة الفايروسية لكل تخفيف، حضنت لمدة ساعة ٣٧ °م حقن بعدها من كل تخفيف في أربع أجنة بعمر ١١ يوم على الغشاء اللقانقي المشيمي ثم تم حساب المعيار.

إحداث العدوى التجريبية في الحملان

لإحداث العدوى التجريبية في الحملان استخدمت أربعة حملان تراوحت أعمارها ٤-٦ أشهر حيث حقنت العزلة الفايروسية في ٢ من الحيوانات عن طريق الحقن في الأدمة في للجهة الداخلية للفخذ وبجرعة فايروسية ($10^{5.5}$ EID50/0.2ml) أما الحيوانات المتبقية فاعتبرت مجموعة سيطرة، مع الأخذ بنظر الاعتبار بأخذ عينات المصل منها قبل وبعد إجراء الإصابة التجريبية، أبقيت الحيوانات تحت المراقبة لمدة ٢٠ يوما وسجلت الآفات والأعراض الظاهرة عليها ودرجة الحرارة (١١).

اختبار التعادل المصلي

لغرض استبيان معيار مصول الحيوانات المصابة تم إجراء هذا الاختبار باستخدام أجنة بيض الدجاج، حيث خففت الأمصال ثنائيا مزج مع كل تخفيف 100EID50/0.1ml من العزلة الفايروسية وترك لمدة ساعة ٣٧ °م حقن بعدها من كل تخفيف في أربع أجنة بعمر ١١ يوم على الغشاء اللقانقي المشيمي وتم حساب المعيار حسب طريقة (١٢).

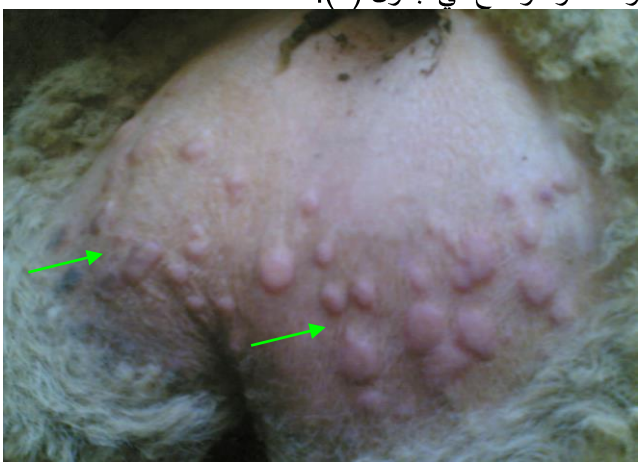
النتائج

الفحوصات السريرية

لوحظ من خلال فحص الحيوانات المصابة وجود بثور الجدري المميزة وبأطوار متباينة والتي كانت تتركز في منطقة الالية، حول الفم، حول العينين، الأذان والجهة الداخلية للأطراف وكما هو موضح في الشكلين (١ و ٢). تركزت هذه العلامات في الحيوانات كبيرة العمر والتي تراوحت أعمارها مابين٢-٥ سنوات، في حين عانت الحيوانات الصغيرة العمر وخاصة في الحملان التي أعمارها اقل من سنة من وجود بثور في أنحاء الجسم مع نسبة هلاكات وصلت في بعض الأحيان ١٥٪ وبعد إجراء الصفة التشريحية على هذه الحيوانات لوحظ احتقان عام في الجسم مع وجود بثور على الرئة مع التهاب رئوي شديد.

عزل وتنمية الفايروس على أجنة بيض الدجاج

من خلال تنمية الفايروس من الحالات التي حصلت فيها الإصابة لوحظ عدم حصول هلاكات في الأجنة مع عدم ظهور أي تأثيرات عيانية على الأجنة وأغشيتها ولستة حالات مستخدمة قيد الدراسة، أما العزلة الأخرى فلوحظ قدرتها على النمو على أجنة بيض الدجاج تمثل هذا النمو بوجود أفات مميزة على الغشاء اللقانقي المشيمي واحتقان ووذمة وكما هو موضح في الشكلين (٣ و ٤) في حين تم ملاحظة نزف وضعف في النمو على الأجنة وازدادت هذه التأثيرات شدة مع تقدم التمريرات وكما هو موضح في جدول (١).



الشكل(١) يبين البثور الظاهرة على الإلية وبمختلف الأطوار.

الشكل (٢) يبين البثور المنتشرة على الوجه، الشفاه، طاقتي الأنف، حول العينين والأذان.

التشخيص الفايروسي

بينت النتائج انخفاضا كبيرا في المعيار ألحجمي للعزلة الفايروسية أثناء معاملتها بالمصل المناظر لها، في حين كان انخفاض العزلة اقل أثناء معاملتها بالمصل عالي التمنيع لفايروس جدري الأغنام وكما هو موضح في جدول (٢).

الإصابة التجريبية

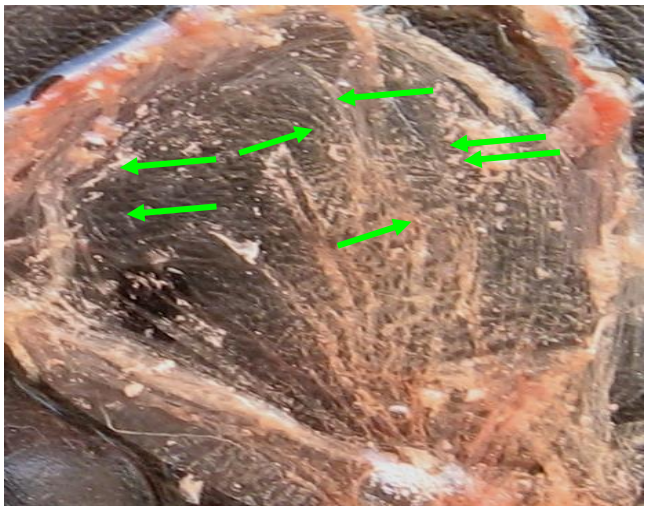
تبين من الإصابة التجريبية التي أجريت على الحملان المحلية بالعزلة الأولى وجود تفاعل موضعي في موضع الحقن بعد اليوم الخامس من الحقن وفي اليوم التاسع بعد الحقن لوحظ ظهور بثور في منطقة الحقن والالية وبعد اليوم الرابع عشر من الإصابة انتشرت هذه البثور وبأطوار مختلفة في مناطق عديدة من جسم الحيوان لتشمل منطقة الوجه والأذان ترافقت مع هذه الأعراض قلة في الأكل مع ارتفاع في درجة الحرارة حيث وصل أقصاه في اليوم العاشر بعد الحقن(٤١،٧ °م) وحصول هلاك في احد الحملان بعد ١٥ يوم من الحقن، وكما هو موضح في الشكل (٥).

جدول (١) معيار العزلة الفايروسية مع تأثيراتها العيانية الظاهرة على أجنة بيض الدجاج.

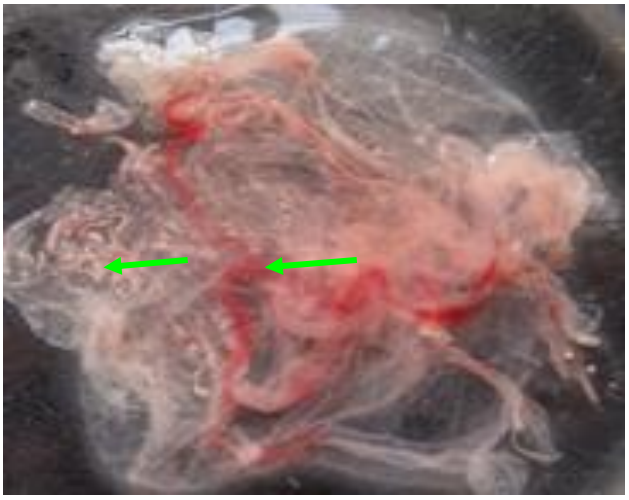
رقم التمريرة	P1	P2	P3	P4
معيار العزلة EID50/0.1 ml	$10^{3.4}$	$10^{3.9}$	10^{4}	$10^{5.5}$

وقت موت الجنين بالساعات	٩٦	٩٦	٨٤	٧٢
ضعف النمو	+	++	++	+++
احتقان الأحشاء	+	++	+++	+++
احتقان الغشاء اللقانقي المشيمي	+	++	+++	+++
ظهور بقع	--	--	+	++
وذمة على الغشاء اللقانقي المشيمي	--	--	+	++
نزف على الرأس	--	+	++	+++

الإشارات التالية تمثل شدة الإصابة، -- عدم وجود أفات، + أفات بسيطة، ++ أفات متوسطة، +++ أفات شديدة.



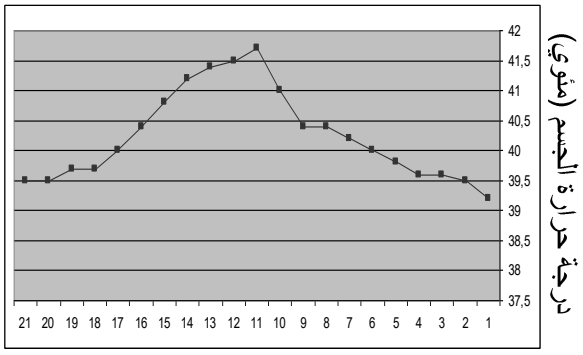
الشكل (٣) يوضح البثور على الغشاء اللقانقي المشيمي لأجنة بيض الدجاج.



الشكل (٤) يوضح احتقان وتثخن الغشاء اللقانقي المشيمي لأجنة بيض الدجاج مع ظهور البثور.

جدول (٢) يوضح مدى العلاقة المستضدية مابين العزلتين وفايروس جدري الأغنام.

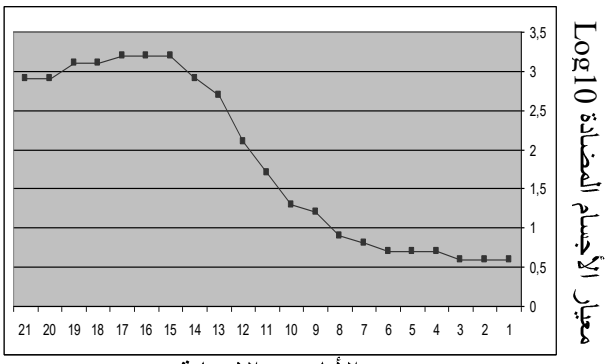
المعيار ألحجمي قبل المعاملة EID50/0.1 ml	$١٠^{٥,٥}$
المعيار ألحجمي بعد المعاملة بالمصل عالي التمنيع EID50/0.1 ml	$١٠^{٣,٧}$
المعيار ألحجمي بعد المعاملة بمصل الحيوانات المناظرة EID50/0.1 ml	$١٠^{٢,٢}$



الشكل (٥) يوضح درجات الحرارة للحملان المصابة بالعزلة الفايروسية.

اختبار التعادل المصلي

تبين من خلال اختبار التعادل المصلي لأمصال الحملان التي تم إصابتها تجريبيا باستخدام العزلة الفايروسية وجود ارتفاع في معايير الأضداد فكان هذا الارتفاع أعلى في الحملان وليصل أعلى معيار لها بعد ١٤ يوم من الإصابة، الشكل (٦).



الشكل (٦): يوضح معيار الأضداد للحيوانات المعرضة للإصابة التجريبية بالعزلة باستخدام اختبار التعادل المصلي.

المناقشة

مرض جدري الأغنام احد الأمراض الفايروسية التي لازالت تهدد الثروة الحيوانية وبالرغم من التلقيحات المستمرة إلا أن خطر المرض لازال قائما بسبب عدم وجود لقاحات محضرة من عتر معزولة محليا وكذلك قد يعود السبب إلى عدم وجود برنامج لقاحي منتظم بصورة صحيحة أو لوجود عوامل مثبطة فضلا عن ذلك فان أعداد كبيرة من الأغنام في العراق في حركة تنقل دائمة والتي قد تساهم مساهمة كبيرة في نقل وانتشار المرض.

في هذه الدراسة قمنا بتنمية عزلات تم أخذها من حالات يشك بإصابتها بالمرض وتمت تنميتها على الغشاء اللقانقي المشيمي لأجنة بيض الدجاج إلا أن ستة من هذه العزلات لم تظهر نمو على الأجنة فقد يعود السبب إلى صفات وخواص العزلات من ناحية Strain variation وقابلية بعض العتر إما للنمو أو عدم النمو على الأجنة وهذا يتفق على ما ذكره (١٣).

أما العزلة الأخرى فأظهرت نمو على الغشاء اللقانقي المشيمي لأجنة بيض الدجاج ولكن كان المعيار ألحجمي منخفضا مقارنة بعدد التمريرات، فقد يعود السبب إلى طريقة التنمية المتبعة إذ لا تنمو كل عزلات فايروس جدري الأغنام على أغشية أجنة بيض الدجاج وهذا يتفق على ما ذكره (١٤).

أما نتائج دراسة التشخيص الفايروسي عن طريق معادلة المصل عالي التمنيع لفايروس جدري الأغنام مع العزلة الفايروسية والمصل المناظر حيث وجد تباين في معادلة العزلة مع هذين المصلين فقد يعود السبب الى حالة عدم التشابه أو عدم التجانس Heterologous للخواص البايولوجية واختلاف الخصائص المستضدية وهذا ما شار إليه (١٥) في حين بين (١٦) إلى وجود تباين لكون المسبب المرضي هو احد أفراد نفس الجنس الذي يعود إليه فايروس جدري الأغنام والذي يصيب الأغنام والمعز على حد سواء وهذا هو الرأي الأكثر ترجيحا.

في حين بينت نتائج الإصابة التجريبية إلى قدرة العزلة النامية على الأجنة على إحداث المرض في الأغنام إذ بينت العترة أعراضا اشد وأسرع وقعا وحدوثا مع وجود هلاكات ترافقت مع ارتفاع في درجات الحرارة ومعيار الأضداد المعادلة وهذا يطابق (١٧) في حين أشار الباحثين (١٨) إلى حدوث أعراضا وآفات أكثر شدة من هذه العزلة أثناء الإصابة التجريبية في الأغنام أيضا فقد يعود السبب إلى تباين في ضراوة العتر المسببة للمرض.

شكر وتقدير

يتقدم الباحث بالشكر والثناء لكلية الطب البيطري، جامعة الموصل لدعمها المادي والمعنوي لانجاز هذا البحث.

المصادر

1. Bhanuprakash V, Moorthy ARS, Krishnappa G, Srinivasagowda RN, Indrani BK. An epidemiological study of sheep pox in Karnataka state, India Rev Sci Tech Off Epi. 2005;24:909-920.
2. Tulman ER, Afonoso CL, Zsak Z, Sur JH,Sandybaev NT, Kerembeko UZ, Zaitsev VL, Kutish GF, Rock DL. The genomes of sheep pox and goat pox. J Virol. 2002;76:6054-6061.
3. Belwal LM, Nina AE, Mather PB, Singh RN. Epidemiology of Sheep pox. Trop Anim Health Prod. 1982;14:229-233.
4. Davis FG. Characteristic of avirus causing a pox in sheep and goat in Kenya, with observation on the epidemiology and control. J Hygiene. 1976;76:163-171.
5. Bidjeh K, Ganda K, Diguimbayg C. Goat small pox in Chad: study of the pathology of the virus in sheep and goat. Rev Sci Tech Off Epi. 1991;44:33-36.
6. Garner MG, Sawakar SD, Brett EK, Edward JR, Kulkarni VB, Boyle DB, Singh SN. The extent and impact of sheep pox and goat pox in the state of Maharashta, India. Trop Anim Health Prod. 2000;32:205-223.
7. Rai A. Methods in veterinary virology. India, Indian veterinary Research institute; 2005.p 52.
8. Abu-Elzein E, Housawi F, Romadon O, Gameel A, Al-Afaleq A, Al-Gundi O. Observation on natural and experimental infection in sheep and goat with virulent field capripox virus with high affinity to goat. J Virol. 2003;73:119-131.
9. Rovozzo GC, Burke CN. Manual of basic virological technique. New Jersey: Prentice-Hall Inc, Engleewood Cliffs;1973.p 139.
10. Rae TVS, Bandypadhyay SK. A comprehensive review of goat pox and sheep pox and their diagnosis. Animal Health Res Rev. 2000;1:127-136.
11. Afshar A, Bundza DJ, Myer GC, Thomas FC. Sheep pox: Experimental studies with a West African isolate. Can Vet J. 1986;27:301-306.
12. Reed LJ, Muench H. Asimple meyhod estimating fifty percent end point. Am J Hygiene. 1938; 27:493-498.

١٣.العبيدي، هيفاء مزهر مهدي. دراسة حول عزل وتوصيف فايروس جدري الاغنام في العراق. (١٩٧٨). رسالة ماجستير. كلية الطب البيطري، جامعة بغداد.

14. Kitching RP, Tayler WP. Clinical and antigenic relationshipe between isolates of the sheep pox and goat pox viruses. Trop Anim Health Prod. 1985;17:64-74.
15. Srivastava RN, Singh IP. Antigenic difference between extracelluar and intracellular sheeppox virus. Indian J Anim Sci. 1980;50:1098-1103.

١٦.العطار، مزاحم ياسين خليل. دراسة تحضيرية لانتاج لقاح جدري المعز من فايروس العترة المحلية. (١٩٨٦). رسالة ماجستير. كلية الطب البيطري، جامعة بغداد.

17. Sheikh AM, Mohammed EH, Babiker HA, Abdel-wahid SA. Alteration in some epidemiological patterns and virus heterogeneity recently observed in sheeppox outbreaks in the Sudan. Veterinaski Arhiv. 2004;74:341-350.
18. Abu-Elzein EMF, Housawi FMT, Al-Afaleq AI, Ibrahim AO. Protection of goats, with sheeppox virus, against avirulant capripox virus with high affinity to goats. Sci J King Fascial University. 2004;5:263-274.