المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد 21، العدد 1، 2007 (39-44)

التحري عن الأجسام المضادة لفايروس أنفلونزا الطيور في الدجاج في محافظة نينوى – العراق

مزاحم ياسين العطـــار
فرع الإحياء المهجرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل.
الموصل– العراق

(الأستلام: 21 اب، 2006؛ القبول: 19 شباط، 2007)

الخلاصـــــة

تضمنت الدراسة جمع 200 نموذج مصلي من فروج اللحم الذي ظهرت عليـــه علامات مرضية لإصابات تنفسية وهضمية وهلاكات ملحوظة وعلى مرحلتين , الأولـــى اثناء الإصابة الحادة والثانية بعد أسبوعين من الإصابة لنفس القطيع , واستخدم اختبـــار الاليزا للتحري عن الأجسام المضادة لفايروس مرض أنفلونزا الطيور حيث بينت النتائج وجود هذه الأضداد بنسبة 50 % لنماذج المرحلة الأولى ونسبة 78% لنماذج المرحلـــة الثانية .

كما استخدم اختبار تثبيط التلازن الدموي للتحري عن تشخيص هذه الأضداد في جميع الأمصال باستخدام مستضد فايروس مرجعي نمط (H_9N_2) وأظهرت نتـــائج هـــذا الاختبار وجود الأضداد بنسبة 42% ومعدل معيار 24.19 لنماذج المرحلة الأولى بينما كانت نسبة الأضداد الموجبة لنماذج المرحلـــة الثانيـــة 52% ومعـــدل معيـــار 30.15 ويستنتج من ذلك وجود الأجسام المضادة لفايروس انفلونزا الطيور للنمط (H_9N_2)فـــي قطعان فروج اللحم في محافظة نينوى وان اختبار الاليزا كان أكثر حساسية في الكـــشف عن هذه الأضداد من اختبار تثبيط التلازن الدموي .

DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST AVIAN INFLUENZA VIRUS IN CHICKENS IN NINEVAH PROVINCE IRAQ

M. Y. AL-Attar
Department of Microbiology, College of Veterinary, Medicine University of Mosul. Mosul-Iraq

ABSTRACT

The study included collection of 200 serum samples from Broilers which showed clinical signs of Respiratory and Digestive lnfections as well as noticable mortality. Samples were collected through two stages, first at acute infection and the second two weeks post infection from the same Broilers flocks.

ELISA test was used for the detection of Avian Influenza antibodies showed positive reaction for 50% of first stage serum samples and 78% Positive reaction of second stage serum samples.

Haemagglutination inhibition (HI) test also used for detection of antibodies using reference antigen to Avian Influenza virus subtype (H_9N_2). Results showed positive reaction of 42% of first stage serum samples with mean of titer at 24.19 and 52% positive reaction of second stage serum samples with mean of titer at 30.15. These results indicated the presence of antibodies against Avian Influenza virus subtype (H_9N_2). In broiler's flocks of Ninevah province and ELISA test was more sensitive than (HI) test in antibodies detection.

المقدمـــــــــة

مرض انفلونزا الطيور يسببه فايروس ينتمي الى عائلة اورثومكزو النـــوع (A) حامضه النووي من النوع RNA أحادي الخيط مجزأ (1) وهذا المرض يصيب الدواجن بأنواعها الحقلية وطيور الأقفاص والطيور البرية (2) وتعتبر الطيور المائيـــة المهـــاجرة المضيف الخازن والناقل لمعظم أنماط فايروس الأنفلونزا نوع (A) ومـــصدرا" لانتـــشار الإصابة في مناطق واسعة من العالم (3) ويتميز هذا النوع من فايروس الأنفلونزا بقابليته على حدوث التغيرات المستضدية مما يؤدي الى إصابات تحت السريريه وأخرى سريريه متباينة في شدتها إضافة الى قابليته على حدوث الطفرات الوراثية وظهور أنماط جديـــدة شديدة الضراوة بسبب إعادة ترتيب قطع الجينوم المجزأ وإمكانيـــة حـــدوث ظـــاهرتي Antigenic drifts وكذلك Antigenic drifts مما يؤدي الى تغير في الشفرة الوراثية المحمولة على البروتينات السكرية المكونة للمحددات المستضدية الملزنة لكريـــات الـــدم الحمراء hemagglutinin (HA) والمكتشف منها لحد الآن (15) نوع (H1 – H15) وكذلك البروتينات الغلافية من النوع Neuraminidase (NA) ذات النشاط الإنزيمـــي والمكتشف منها (9) أنـــــــواع (N1 – N9) ونتيجة لهذا التنوع لمستضدات HA و NA أصبح عدد الأنماط لفايروس أنفلونزا الطيور 135 نمط لحد ألان كـــان أخطرهـــا النمط H_5N_1 الذي عزل لأول مرة عام 1961 من الدواجن فقط (4) وفي عـــام 1997 عندما حصل وباء في هونك كونك أصاب الدواجن بهلاكات كبيرة وكذلك أدى الى وفـــاة 20 شخص في حينها تبين من النمط H_5N_1 الذي كان مقتصر على إصـــابة الـــدواجن وتحول ليصيب الإنسان كذلك (5 , 6) ونظرا لاستمرار ظهور إصابات مرضـــية فـــي الدواجن مشابهة في إعراضها السريرية لمرض أنفلونزا الطيور وأهمية وخطورة المرض تم إجراء هذه الدراسة للتحري عن وجود الإصابة بهذا المرض وتحديد نمطه المصلي في محافظة نينوى.

المواد وطرائق العمـــــل

أولا: النماذج المرضية: تم جمع 200 نموذج مصلي من دجاج فروج اللحم بعمر يتراوح بين 25 – 40 يوم كانت تظهر عليه علامات مرضية تنفسية وهضمية وهلاكات ملحوظة 20% - 30% وقد جمعت النماذج على مرحلتين وكما يلي :

أ- المرحلة الأولى: 100نموذج مصلي بداية ظهور الإعراض المرضية.

ب-المرحلة الثانية: 100نموذج مصلي بعد أسبوعين من أخذ نماذج المرحلة الأولى ومن نفس القطعان المصابة.

وقد جمعت هذه النماذج من حقول دواجن فروج اللحم في مناطق مختلفة من محافظة نينوى ومن النماذج المرضية التي كانت ترد الى مختبر الدواجن في المستشفى البيطري في المحافظة.

ثانيا: التحري عن وجود الأجسام المضادة لفايروس أنفلونزا الطيور بواسطة اختبار الاليزا ELISA حيث استخدمت عدة خاصة لهذا الغرض (Avian Influenza Elisa Kit) تم الحصول عليها من المركز الأردني للصناعات البويولوجية وقد أجرى هذا الاختبار حسب تعليمات الشركة المجهزة والمرفقة مع عدة التشخيص الخاصة بهذا الفايروس وتم قراءة النتائج باستخدام الجهاز الخاص بقراءة نتائج هذا الاختبار (ELISA Reader) والمتوفر في مختبر الفايروسات كلية الطب البيطري /جامعة الموصل .

ثالثا: تشخيص النمط المصلي للأجسام المضادة لفايروس أنفلونزا الطيور بواسطة اختبار تثبيط التلازن الدموي باستخدام مستضد مرجعي لفايروس أنفلونزا الطيور النمط (H_9N_2) باستخدام أربعة وحدات ملزنة للفايروس وكريات الدم الحمراء للدجاج تركيز 0.5 % .

النتائج

نتائج الكشف عن الأجسام المضادة لفايروس أنفلونزا الطيور في أمصال الدجاج:

أ- اختبار الاليزا: أظهرت نتائج هذا الاختبار لنماذج أمصال المرحلة الأولى (بداية ظهور الأعراض المرضية) نتيجة موجبة بنسبة 50% أما نماذج أمصال المرحلة الثانية (أسبوعين بعد ظهور الأعراض المرضية) فقد كانت موجبة بنسبة 78% الجدول (1).

جدول1 : نتائج اختبار الاليزا

نوع النموذج المصلي	معدل قيمة الكثافة الضوئية	نسبة الأمصال الموجبة
أمصال المرحلة الأولى بداية ظهور الأعراض المرضية	0.681	% 50
أمصال المرحلة الثانية أسبوعين بعد ظهور الأعراض المرضية	1.220	% 78

ب- نتائج اختبار تثبيط ألتلازن الدموي (HI):

1- نماذج أمصال المرحلة الأولى:- أظهرت نتائج هذا الاختبار تفاعلا" موجبا" مع فايروس انفلونزا الطيور النمط (H_9N_2) بنسبة 42% ومعدل معيار الأضداد المثبطة للتلازن الدموي كان (24.19) وبمدى معيار مقداره 8 – 64 .

2- نماذج أمصال المرحلة الثانية :- كانت نسبة النماذج الموجبة مع فايروس انفلونزا الطيور النمط (H_9N_2) هي 52% ومعدل معيار الاضداد المثبطة للتلازن الدموي كان (30.15) وبمدى معيار مقداره 8 – 128 جدول (2).

جدول 2 : نتائج اختبار تثبيط التلازن الدموي

نوع النموذج المصلي	مدى معيار الأضداد * المثبطة للتلازن الدموي	معدل معيار الأضداد المثبطة	نسبة الأمصال الموجبة
أمصال المرحلة الأولى بداية ظهور الإعراض المرضية	8 – 64	24 .19	42 %
أمصال المرحلة الثانية أسبوعين بعد ظهور الإعراض المرضية	8 – 128	30.15	52 %
مصل سالب	2 – 4	2.80	-

* المعيار الموجب للاضداد المثبطة للتلازن ≥ 8 .

المناقشـــــــــــة

تأتي أهمية هذه الدراسة من أهمية مرض أنفلونزا الطيور الذي كثر الاهتمام بـه عالميا" بعد ثبوت إمكانية حصول التغير الوراثي لهذا الفايروس وإمكانية إحداثه للمرض في الإنسان كما حصل للنمط (H_5N_1) وبذلك أصبح من الأمراض ألمشتركة التي تصيب الإنسان والحيوان (7, 8). حيث أدى هذا المرض الى وفاة 138 شخص في جميع أنحاء العالم اثنان منهم في العراق منذ عام 2003 وحتى آب عام 2006 (9) والخطورة تكمن في أمكانية حدوث تغير وراثي في الأنماط الفايروسية عدا النمط H_5N_1 بسبب طبيعة حامضة النووي المجزأ والذي من السهل ان يتغير من حالة الى أخرى اشد ضراوة وخطورة (4) . لذلك أصبح من الضروري متابعة وبائية هذا المرض ومعرفة الأنماط المصلية المنتشرة في المناطق المختلفة من العالم . وقد تم استخدام اختبار الاليزا للتحري عن الأجسام المضادة لفايروس أنفلونزا الطيور باعتباره من أكثر الاختبارات المصلية حساسية للكشف عن الأضداد الخاصة بهذا الفايروس (10) وبينت نتائج هذا الاختبار ايجابية وجود هذه الأضداد بنسبة 50% لنماذج أمصال الأولى (بداية ظهور الأعراض المرضية) بينما بلغت تلك النسبة 78% لنماذج أمصال المرحلة الثانية التي أخذت بعد أسبوعين من الإصابة مما يدل على انتقال الإصابة الى معظم إفراد القطيع المصاب وان الغاية من استخدام النماذج على مرحلتين الأولى بداية الإصابة والثانية بعد أسبوعين من ذلك لنفس القطيع أهمية كبيرة في تأكيد خمجية هذا الفايروس للدجاج وان هذه الأضداد التي تم الكشف عنها هي نتيجة لذلك الخمج وليس نتيجة استجابة مناعية لقاحية او أي سبب آخر وهذا يتفق مع ما ذكره (11) من ان معيار الأضداد لفايروس أنفلونزا الطيور تضاعف بمقدار أربعة أمثال معيار الأضداد في أمصال نماذج الدم بعد 21 يوم من الإصابة عن تلك النماذج التي أخذت في بداية ظهور الأعراض المرضية.

وقد تم استخدام اختبار تثبيط ألتلازن الدموي لتشخيص النمط المصلي باستخدام المستضد الفايروسي (H_9N_2) باعتبار هذا الاختبار ذو خصوصية عالية في تشخيص الأضداد الخاصة بالنمط والنوع لفايروس أنفلونزا الطيور وقد اتفقت نتائج هذا الاختبار مع نتائج اختبار الاليزا (12) وقد استخدم المستضد الفايروس H_9N_2 لتوفره في العراق وهو أول نوع يتم عزله محليا" وتشخيصه في مختبرات مرجعية (11). كما ان هذا النمط الفايروسي هو الذي تم عزله في الدول المجاورة للعراق مثل المملكة العربية

السعودية وإيران(4، 13) مما يدل على إمكانية انتقال النوع الفايروسي من الدول المجاورة لذلك يقتضي الاستمرار بمتابعة وبائية هذا الفايروس وأنماطه في العراق واتخاذ الإجراءات اللازمة والكفيلة بمنع انتقال هذا الفايروس من الدول المجاورة كما يمكن الاعتماد على اختبار الاليزا باعتباره أكثر حساسية في الكشف عن الأجسام المضادة لفايروس أنفلونزا الطيور بشكل سريع ودقيق أكثر من اختبار تثبيط التلازن الدموي وهذا ما أكده (10، 11، 15). وفي دراسة اجريت لتقييم الكفاءة المناعية للقاح زيتي مبطل لفايروس انفلونزا الطيور نوع H_9N_2 وجد ان اعلى معيار للاضداد تم الكشف عنه بأختبار تثبيط التلازن الدموي هو64 وبعد 21 يوم من التلقيح وهذا يعزز النتائج التي تم التوصل اليها في هذه الدراسة عندما وصل معيار الاضداد الى 128 في نماذج المرحلة الثانية وبأستخدام نفس الاختبارمن ان هذه الاضداد هي نتيجة خمج حقلي وليس استجابة مناعية بألرغم من ان القطعان التي اخذت منها النماذج المصلية كانت غير ملقحة ضد فايروس انفلونزا الطيور (16).

المصـــــــادر

1. Alexander D J. Orthomyxovirus Infection in: Virus infections of birds . McFerrin J B. Menutly M S (eds.) Elsevier Science publishing company New York, USA 1993; 287 – 315.
2. Easterday BC, Hinshaw VS, Halvorson DA. Influenza. In: Disease of Poultry. Calnek BW, Barnes HJ, Beard ew, MeDoughald LR, Saif YN 10th (ed). Iowa state university press. Ames, USA 1997: 583–605.
3. Webster RG, Bean WJ, Gordman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza viruses. Microbial Rev 1992; 56: 152–179.
4. Carter GR, Wise DJ, Flores EF. A concise Review of veterinary virology , International veterinary information service. Ithaca NY (WWW. ivis. org), 2005.
5. MMWR. Update isolation of avian influenza A (H5 N1) viruses from human Hong-kong, 1997 – 1998, MMWR. Moab. Mortal. Wkly Rep 1998; 46 (52 – 53): 1245–1247.
6. Zhou NN, Shordidge FK, Krauss LS, Webster GR. Rapid evolution of H5N1 Influenza viruses in chicken in Hong. J Virol 1999; 73 (4): 3366–3374.
7. Jawetz EMD, Mel nick JL, Adelberg's EA. Orthomyxo viruses (Influenza viruses) In: Medical Microbiology 22th ed . Lange Medical Book, McGraw- Hill. 2001: 459 – 469.
8. Oxford JS. Influenza A pandemic of the 20th century with special references to 1918: Virology , Pathology and Epidemiology . Rev. Med Viral 2000; 10: 119 – 133.
9. WHO. Cumulative Number of confirmed human cases of Avian Influenza A / H5 N1 Reported to WHO 2006. www. Int. Avian Influenza.
10. Snyder DB, Marquardt WW, Yancey FS, Savage PK. An enzyme Linked immunosorbent assay for the detection of antibody against Avian influenza virus. Avian Dis. 1984; 29(1): 136–145.

11. النصراوي, هدى عبد الهادي علي , ألبنا , أنطوان صبري , الخياط , رمزية محمد حسن دراسة عن الإصابة بفايروس أنفلونزا الطيور في الدجاج , مجلـــة القادســـية لعلوم الطب البيطري 2005 , المجلد 4 , العدد 1 ص 6 – 14.
12. Ravozzo GC, Burke N. Manual of basic virological technique, prentice – Hall Inc., Englewood cliffs, New Jersey. 1973.
13. Sluis WV. AI in southern Asia and the middle east. World poultry special issue. 2000: 25.
14. Ziggers D. Avian influenza in lran unpredictable outbreak with serious losses. World Poultry. 1999: 15(4): 49–50.
15. Turner R, Lathery JL, varies LPV, Belches RB. Serological diagnosis of B virus infection : Comparison of an lmmunosorbent assay and haemagglutination Inhibition . J Clin Microbiol 1982; 15(5): 824–829.
16. Moghaddam pour M ,Momayez R ,Akhavizadegan M A . The efficacy of inactivated oil-emulsion H9N2 avian influenza vaccine. Iranian J Vet Res. Univ Shiraz 2006; 7(2): 85-88.