

دراسة مقارنة للقاحات المستخدمة للسيطرة على متلازمة موه التامور والتهاب الكبد في الدواجن

فناز ابلحد دانيال^{*}، مزاحم ياسين العطار^{*}، فاضل عباس جاسم^{**}

*فرع الأحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل. **الشركة العامة لخدمات الثروة الحيوانية، وزارة الزراعة، بغداد، العراق

(الاستلام ٥ شباط ٢٠٠٥؛ القبول ٢٢ تشرين الاول ٢٠٠٥)

الخلاصة

تم تقييم نوعين من اللقاحات الزيتية المبطلة الخاصة بمتلازمة موه التامور والتهاب الكبد في الدواجن (HHS) إحداها لقاح (Angavac) منتج من شركة ميرال الفرنسية والأخر لقاح (Nobilis Hepatitis) منتج من شركة انترفيت الهولندية. وقد استخدم برنامج تلقيح موحد للقاحين حيث لقحت مجموعتين من الأفراخ بعمر يوم واحد باستعمال طريقتين للحقن تحت الجلد وبالعضل في حين لقحت مجموعتين آخريتين بعمر ١٠ أيام وباستعمال طريقتين للحقن أيضاً بعدها حسب معيار الأضداد المناعية المكونة بعد التلقيح أسبوعياً باستخدام اختباري التلازن الدموي غير المباشر (IHA) والانتشار في هلامنة الاكار (AGDT) كما اجري اختبار التحدي بعمر ٤ أسابيع باستعمال فيروس ادينو الطيري الضاري / النمط المصلبي الرابع Hepatitis-4 (VAAV-4) و فيروس حقلی آخر غير منمط ، وقد أظهرت النتائج تكون أعلى مستوى للأضداد في الأسبوع الرابع بعد التلقيح بكل اللقاحين وكلا الاختبارين ولكن بمعايير أعلى مع لقاح Angavac ، كما واظهر اختبار (IHA) حساسية اكثرب في الكشف عن الأضداد مقارنة باختبار (AGDT). أعطى لقاح Angavac نسبة حماية بلغت 100% بينما كانت نسبة الحماية في لقاح (Nobilis Hepatitis) فقط عند استعمال فيروس (VAAV-4) في جرعة التحدي ، في حين لم تتجاوز نسبة الحماية بكل اللقاحين ٤٠-٥٥% فقط عند استخدام الفيروس الحقلی في جرعة التحدي.

COMPARATIVE STUDY OF HYDROPERICARDIUM HEPATITIS SYNDROME VACCINES IN POULTRY

F A Danial^{*}, M Y Al-Attar^{*}, and F A Jassim^{**}

*Department of Microbiology, College of Veterinary Mince, University of Mosul, Mosul. ** General Company of Animal Resources, Ministry of Agriculture Baghdad, Iraq.

ABSTRACT

Two commercial types of Hydro pericardium Hepatitis Syndrome (HHS) oily inactivated vaccines were evaluated. The first was (Angavac) French in origin (Merial Co.) & the 2nd is (Nobilis Hepatitis) Holland in origin (Intervet Co.). A unified program of vaccination had been used for both vaccines. One & ten days old chicks

were vaccinated by subcutaneous & intramuscular route of injection with both vaccines in each age separately . Serum antibodies titer weekly measured by using Indirect haemagglutination test (IHA) & agar gel diffusion test. Challenge test at 4 week of age was done by virulent avian adeno virus serotype – 4 (VAAV-4) as well as virulent field isolate was used as challenge virus. The result showed highest antibodies titer at week age. Angavac vaccine gave highest titer than Nobilis Hepatitis vaccine & IHA was more sensitive than AGDT. All groups vaccinated with Angavac gave 100% protection in challenge test with (VAAV-4) at 28 days. While in Holland vaccine the protection ratio was 60-80% only, but the ratio of protection of both vaccines did not exceed than 40-50% when the field isolate was used as challenge virus.

المقدمة

تعتبر متلازمة موه التامور والتهاب الكبد (HHS) في الدجاج أحد أهم الأمراض الفيروسية والتي ظهرت كعقدة كبيرة في صناعة الدواجن منذ أواخر الثمانينيات ، وقد ظهر هذا المرض لأول مرة في الباكستان عام ١٩٨٧ (١) بعد ذلك سجل أول ظهور له في العراق عام ١٩٩١ (٢) وقد تم عزل المسبب المرضي له لأول مرة في القطر عام ١٩٩٥ (٣) حيث شخص النمط المصلبي الثاني والثالث والخامس لهذا الفيروس الذي يضم ١٢ نمطاً مصلبياً والتي بدورها تنتهي إلى المجموعة الأولى من عائلة فيروسات الادينو (٤) بينما عزل النمط المصلبي لهذا الفيروس ودرست امراضيته التجريبية من قبل (٥) وأجريت عليه أيضاً دراسة مرضية ونسجية من قبل (٦) وبسبب أهمية وخطورة هذا المرض تم استيراد نوعين من اللقاحات الزيتية المبطلة للسيطرة على هذا المرض ، الاول لقاح (Angavac) المنج من شركة مريال الفرنسية والثاني (Nobilis Hepatitis) المنتج من قبل شركة انترفيت الهولندية ، ولغرض المقارنة بين هذين اللقاحين وتقييم كفاءتهما التمنيعية تم أجراء هذه الدراسة لعدم توفر أي دراسة لهذين اللقاحين في القطر .

المواد وطرائق العمل

أولاً: اللقاحات المستخدمة

أ / لقاح (Angavac) المنج من قبل شركة مريال الفرنسية.

ب/ لقاح (Nobilis Hepatitis) المنتج من قبل شركة انترفيت الهولندية.

وكلا اللقاحين محضر من فيروس ادینو الطيور المجموعة الاولى / النمط المصلبي الرابع وهو لقاح مقتول (Killed vaccine) وتم الحصول عليهما من الشركة العامة للبيطرة.

ثانياً: برنامج التلقيح

تم استخدام برنامج تلقيح موحد لكلا اللقاحين بهدف المقارنة بينهما وقد قسمت الأفراخ التي تم الحصول عليها من المفافقين التابعة للمشروع الوطني لانتاج فروج اللحم نوع فاوبرو إلى خمسة مجاميع كل مجموعة تضم ٣٠ فرخ وكانتالي:

المجموعة الأولى والثانية لقحت بعمر يوم واحد بطريقة الحقن تحت الجلد وبالعضل على التوالي.

المجموعة الثالثة والرابعة لقحت بعمر ١٠ يوم وبطريقة الحقن تحت الجلد وبالعضل على التوالي.

المجموعة الخامسة حقنت بمحلول الملح الفسيولوجي المعقّم وقسمت إلى ٤ مجاميع ثانوية، حيث حقنت بأوقات وطرق مشابه للجاميع الأربع الملقحة أعلاه. وكانت الجرعة الفاحية ١٠ مل / طير. وبالنسبة لقاح Angavac و ٢٠ مل / طير بالنسبة لقاح Nobilis وحسب تعليمات الشركة المنتجة لكل منها Hepatitis.

ثالثاً : الاختبارات المصلية

تم اجراء الانتشار في هلامة الاكار (AGDT) حسب طريقة (٧) واختبار التلازن الدموي غير المباشر على جميع الأمصال التي جمعت من أفراخ التجربة بعمر يوم واحد (قبل التلقيح) ثم بعد التلقيح أسبوعياً ولمدة ٤ أسابيع وكذلك مجموعة السيطرة (IHA) حسب طريقة (٨).

رابعاً : اختبار التحدي

تم إعطاء جرعة التحدي للمجاميع الملقحة بكل القاحين وكذلك مجموعة السيطرة بعمر ٢٨ يوم حيث قسمت كل مجموعة ملقحة إلى مجموعتين ثانويتين A, B باعداد متساوية لكل مجموعة بعدها حقنت مجاميع A الثانوية بفيروس التحدي (VAAV-4) بجرعة ٥ مل / طير ١ml / ١٠^{٣.٥} TCID_{٥٠} أما مجاميع B الثانوية فقد حقنت بفيروس ادينو الدواجن الضاري (العزلة الحقلية) بالعضل بجرعة ٥ مل / طير بمعيار ١ml / ١٠^{٣.٠} EID_{٥٠} وتم مراقبة الأفراخ وتتابع النتائج يومياً حتى اليوم السابع بعد جرعة التحدي وقد تم الحصول على كلا فيروسي التحدي من مختبر الفيروسات / كلية الطب البيطري / جامعة الموصل.

النتائج

اولاً: اختبارات الكفاءة المناعية

١) الاختبارات المصلية:

أ - اختبار الانتشار في هلامة الاكار: تم الكشف عن تكون الأضداد في مصوّل الأفراخ المحصنة باللّقاح الفرنسي منذ الأسبوع الأول بعد التلقيح حيث كان معيار الأضداد عند هذا العمر هو (٢Log_٢) للمجاميع الأربع الملقحة باستخدام هذا الاختبار واستمر هذا المعيار بالارتفاع التدريجي حتى الأسبوع الرابع بعد التحصين حيث بلغ عند هذا العمر (٥Log_٢) وفي المجاميع الملقحة كافة. (جدول ١).

اما بالنسبة لللّقاح الهولندي فقد كان معيار الأضداد عند الأسبوع الأول من التلقيح في المجموعتين الثانية والرابعة (التي لقحت بعمر ١ و ١٠ يوم على التوالي بالعضل) هو (Log ١٢) بينما كان صفرأ في المجموعتين الأولى والثالثة (التي لقحت بعمر ١ و ١٠ يوم على التوالي بالحقن تحت الجلد) عند نفس العمر. وارتفع هذا المعيار تدريجياً حتى بلغ عند الأسبوع الرابع بعد التلقيح (٤Log_٢) في المجاميع الملقحة كافة . في حين لم يلاحظ وجود أية أضداد أمية منتقلة إلى الأفراخ بعمر يوم واحد أو أضداد أخرى في مصوّل أفراخ مجموعة السيطرة غير الملقحة (جدول ٢).

وقد ظهرت فروقات معنوية بين معيار الأضداد في مصوّل الأفراخ الملقحة باللّقاح الفرنسي مقارنة بالهولندي بواسطة الاختبار أعلاه (جدول ١ بالمقارنة مع جدول ٢)

ب) اختبار التلازن الدموي غير المباشر: لقد بينت كل من المجموعة الثانية والرابعة (التي لقحت بعمر ١ و ١٠ يوم على التوالي بالعضل) باللّقاح الفرنسي عند عمر ٧ يوم بعد التحصين

معياراً للأضداد قدره $\text{Log}_2 3$ بينما المعيار في المجموعتين الأولى والثالثة (الملقحة بعمر ١ و ١٠ يوم على التوالي تحت الجلد) بالللاج نفسه عند نفس هذا العمر هو $\text{Log}_2 2$ وببدأ هذا المعيار بالارتفاع تدريجياً حتى بلغ عند عمر ٢٨ يوم بعد التحصين $\text{Log}_2 6$ في المجاميع الملقحة كافة (جدول ١). بينما أظهرت كل من المجموعة الثانية والرابعة (التي لقحت بعمر ١ و ١٠ يوم على التوالي بالعضل) بالللاج الهولندي عند الأسبوع الأول بعد التحصين معياراً للأضداد قدره $\text{Log}_2 2$. في حين كان المعيار في المجموعتين الأولى والثالثة (التي لقحت بعمر ١ و ١٠ يوم على التوالي تحت الجلد) بالللاج الهولندي عند نفس العمر هو $\text{Log}_2 1$ وارتفاع هذا المعيار تدريجياً حتى بلغ $\text{Log}_2 5$ عند الأسبوع الرابع بعد التحصين في المجاميع الأربع الملقحة بهذا الللاج بينما لم تظهر هناك أي أضداد أمية في مصوّل الأفراخ بعمر ١ يوم أو في مصوّل أفراخ مجموعة السيطرة غير الملقحة (جدول ٢). وكانت هناك فروقات معنوية بين معيار الأضداد في مصوّل الأفراخ الملقحة بالللاج الفرنسي مقارنة بالللاج الهولندي باستخدام هذا الاختبار أيضاً (بمقارنة جدول ١ ، ٢).

ثانياً: اختبار التحدي

لقد أظهرت الأفراخ المحسنة بالللاج الفرنسي والمحقونة بجرعة التحدي (مجاميع A الثانوية) بفيروس الإدينو النمط المصلي الرابع (VAAV-4) نسبة حماية بلغت ١٠٠% في هذه المجاميع . بينما كانت نسبة الحماية في مجاميع B الثانوية كافة والمحقونة بفيروس الحقلي ٤٠-٥٠%. فقط. بينما أظهرت كل من مجاميع A,B الثانوية الملقحة بالللاج الهولندي المحقونة ٤٠-٥٠% والفيروس الحقلي نسبة حماية ٤٠-٦٠% على التوالي. في حين ظهرت العلامات والآفات الواصمة لمتلازمة موه التامور على أفراخ مجموعة السيطرة غير الملقحة و المتمثلة بتجمع سائل أبيض مصفر في كيس التامور بكمية ١٢-٥ ملتر وتغيير شكل القلب وترهله . حيث بلغت نسبة الإصابة فيها بكل من VAAV-4 والفيروس الحقلي ٦٠-٧٠% (جدول ٣).

جدول (١): معيار الأضداد في مصوّل الأفراخ بعد التلقيح بالللاج الفرنسي باستخدام اختباري Log_2 (مقاساً بـ AGDT و IHA).

العمر بعد التلقيح / بال أيام								قبل التلقيح (مناعة أمية)			
٢٨		٢١		١٤		٧		المجاميع			
AGDT	IHA	AGDT	IHA	AGDT	IHA	AGDT	IHA	AGDT	IHA	الاولى	
٥	٦	٤	٥	٣	٤	٢	٢	٠	٠		الاولى
٥	٦	٤	٥	٣	٤	٢	٣	٠	٠		الثانية
٥	٦	٤	٥	٣	٤	٢	٢	٠	٠		الثالثة
٥	٦	٤	٥	٣	٤	٢	٣	٠	٠		الرابعة
٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠		السيطرة
S*	S	S	S	S	S	S	S				

* S = significance (معنوي)

(وجود فرق معنوي عند مقارنة معيار الأضداد للقاhtين بواسطة IHA و AGDT)

جدول (٢): معيار الاضداد في مصوّل الافراخ بعد التلقيح باللّقاح الهولندي باستخدام اختباري (Log₂) AGDT و IHA مقاساً بـ .

العمر بعد التلقيح / بالايمان												قبل التلقيح (مناعة أمية)
٢٨		٢١		١٤		٧		الجاميع				
AGDT	IHA	AGDT	IHA	AGDT	IHA	AGDT	IHA	AGDT	IHA	السيطرة		
٤	٥	٣	٤	١	٢	٠	١	٠	٠	الاولى		
٤	٥	٣	٤	٢	٣	١	٢	٠	٠	الثانية		
٤	٥	٣	٤	١	٢	٠	١	٠	٠	الثالثة		
٤	٥	٣	٤	٢	٣	١	٢	٠	٠	الرابعة		
٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	٠	السيطرة		

جدول (٣) : نتائج اختبار التحدى لكلا اللقاحين

نوع اللقاح	الجاميع	نوع فايروس التحدى المحققون	نسبة الحماية %	نسبة الإصابة %
فرنسي	مجاميع A الثانوية	AAV-4	%١٠٠	%٠٠
	مجاميع B الثانوية	الفايروس الحقلي الجديد	%٥٠-٤٠	%٦٠-٥٠
هولندي	مجاميع A الثانوية	AAV-4	%٨٠-٦٠	%٤٠-٢٠
	مجاميع B الثانوية	الفايروس الحقلي الجديد	%٥٠-٤٠	%٦٠-٥٠
مجموعة السيطرة	مجاميع A الثانوية	AAV-4	-	%٧٠-٦٠
	مجاميع B الثانوية	الفايروس الحقلي الجديد	-	%٧٠-٦٠

المناقشة

تبين من خلال هذه الدراسة بان لقاح (Angavac) الفرنسي قد احدث ارتقاعاً تدريجياً في معيار الأضداد بدأً من الأسبوع الأول بعد التلقيح وفي المجاميع الأربع الملقحة وبلغ هذا المعيار أقصاه عند الأسبوع الرابع بعد التلقيح وفي كلا الاختبارين (IHA, AGDT) بينما ظهر لقاح Nobilis Hepatitis انخفاضاً في معيار الأضداد في المجاميع الملقحة به وخلال نفس الفترة الزمنية وقد يعزى السبب في ذلك إلى طريقة تحضير اللقاح وكمية المادة البروتينية الممنوعة المحسوبة في الجرعة الواحدة وهذا يتفق مع ما ذكره (٩) عندما لاحظ ان اللقاح المبطة بمادة (Binary ethylene imine BEI) ينتج عنه لقاح ذو كفاءة عالية وافضل مستضدياً مقارنة بنفس اللقاح المبطة بمادة الفورمالين . بينما لم تظهر هناك أية أضداد في مصوّل أفراخ مجموعة السيطرة وكذلك لم يتم الكشف عن وجود هذه الأضداد في مصوّل الأفراخ بعمر يوم واحد وقد يعود السبب في ذلك إلى عدم تلقيح الأمهات ضد هذا المرض في حقول تربية الأمهات في القطر وهذا يختلف مع ما ذكره (١٠) عندما أشار إلى وجود أضداد أمية منتقلة للأفراخ من أمهات ملقحة لكن بمعيار منخفض.

أما بالنسبة لتأثير نوع الاختبار المصلبي المستخدم للكشف عن تكون الأضداد فقد تبين إن هناك حساسية أعلى لاختبار IHA عن اختبار AGDT وهذا يتفق مع ما ذكره (٨) عندما ذكر إن اختبار IHA هو اختبار جيد ودقيق في حساب معيار الأضداد المتكونة بعد التلقيح ضد هذا المرض بالتحديد ، أما بالنسبة لطريقة حقن اللقاح فقد تبين بان الحقن تحت الجلد افضل من الحقن بالعضل عند استخدام اللقاح الفرنسي.

وقد تم اعتماد اختبار التحدي كمقياس لاختبار فعالية اللقاحين باعتباره المقياس العلمي المهم لاختبار فعالية أي لقاح (١١) ، وكانت نتائج هذا الاختبار باستخدام فيروس (VAAV-4) ممتازة ومقنعة بالنسبة للقاح Angavac بينما كانت متوسطة مع لقاح Nobilis Hepatitis وهذا يعزى إلى تقنية تحضير كل لقاح أو عدم قدرة اللقاح نفسه على إعطاء حماية كفؤة ضد المرض وهذا يتفق مع (١٢).

بينما كانت نتائج اختبار التحدي بالفيروس الحقلي ذات أهمية كبيرة بينت عدم قدرة كلا اللقاحين على إعطاء الحماية المطلوبة ضد جرعة التحدي بهذا الفيروس وقد يعزى السبب في ذلك إلى احتمال كون الفيروس الحقلي هو أحد الأنماط المصلية الآتى عشر عدا النمط المصلبي الرابع الذي حضر منه اللقاحين المستخدمين في هذه الدراسة (١٣) والذي أشار إلى وجود علاقة مستضدية مشتركة متباعدة بين فيروسات المجموعة الأولى لجنس ادينيو الطيور، فيما حاول باحثين آخرين الحصول على نسبة حماية افضل باستخدام جرعة لقاحية ثانية معززة لحفظ على مستوى عالي للأضداد المناعية المتخصصة ضد هذا الفيروس (١٤).

المصادر

- 1- Cheema A H, Ahmad J, Afzal A A. An adenovirus- infection of poultry in Pakistan. Rev Sc Tech Inf Epiz 1989; 8(3): 789-795.
- 2- Abdul-Aziz T A, AL- Attar M A, New syndrome in Iraqi Chicks . Vet Rec 1991; 129:272.
- 3- Odisho S M , AL-Bana A, Majeed A K H. Hydro pericardium in broiler chickens in Iraq: isolation & identification of the causative virus. The Iraqi J Vet Med 1996; 19& 20 (1):130- 142.
- 4- Toro H, Gonzales C, Cerdá L, Hess M, Reyes E , Geisse C. Chickens anemia

- virus & fowl adeno virus: Association to induce inclusion body hepatitis / Hydro pericardium Syndrome. Avian Diseases; 2000 44: 51-58.
- ٥- النعمة ، ثابت معاذ . عزل وتشخيص وامراضية فيروس متلازمة موه التامور في الدواجن . ٢٠٠٠ رسالة ماجستير / كلية الطب البيطري / جامعة الموصل .
- ٦- عزو ، عدي سا مي امراضية متلازمة التهاب الكبد وموه التمور المحدث تجريبياً في أفرخ اللحم . ٢٠٠١ رسالة ماجستير / كلية الطب البيطري / جامعة الموصل .
- 7- Pearson J F M. Protocol for immunodiffusion (COG Gins) test for equine infectious anemia. Am Ass Vet Lab Diagnostician, 22nd annual proceeding: 1979; pp 449-462.
- 8- Rahman S U, Ash Faque M, Anjum A D, Sindho T A. Indirect haemagglutination test for detecting Angara disease (Hydro pericardium) agent Antibody. Pakistan J Livestock & Poultry;1997 3 (4):176-178.
- 9- Akhtar M, Ahmad R, Hayat C S, Hussain I., Ash Faque , M. Comparative immune response of formalin inactivated & binary ethylene imine in activated Angara disease vaccine . Pakistan J of Biol Sci . 2000; 3(8):1311-1312.
- 10- Hussain I, Munir R, Akhtar M, Ahmad R Evaluation & comparison of Hydro pericardium syndrome vaccine in broiler chicks. Pak Vet J 1999; 19 (2):88-90.
- 11- Hussain I, Anjum A A, Khan I U H. An oil emulsion vaccine Against hydro pericardium in Broiler chickens . Pak Vet J 1996 ; 16(3):125-127.
- 12- Ahmad I, Malik M I, Iqbal K, Ahmad K, Naz A. Formalinized live- organ- vaccine against Hydro pericardium Syndrome in Broilers. Zootecnica International, February 1990: 56-59.
- 13- Saiffudin M.D, Wilks C R. Development of an enzyme-linked Immuno adsorbent assay to detect & quantify adeno virus in chicken tissue. Avian diseases 1990; 34: 239- 245.
- 14- Balamurugan V ,and Kataria J M . The hydropericardium syndrome in poultry – A Current Scenario Review Paper. Veterinary Research Communications 2004; 127-148.