

دراسة باثولوجية لمتلازمة التهاب الكبد وموه التامور في دجاج اللحم

نضال جبار سوداني* عماد جواد خماس**

الملخص

بعد تثبيت الإصابة الحقلية بمتلازمة التهاب الكبد وموه التامور، تم أخذ مستخلص الكبد وتعزيز الفايروس بتمريرتين في أفراخ لحم بعمر (18) يوماً. بعدها جرى تحديد الجرعة القاتلة لنصف عدد الأفراخ المخمجة وكانت $10^4/0.1\text{ml}$.

أصيب (50) فرخاً بعمر (18) يوماً بالمستضد المعايير وبجرعة 0.1 مل عن طريق العضل وبعد (24) ساعة من الحقن تم تشريح (6) أفراخ (3) منها إناث و (3) ذكور وسجلت التغيرات المرضية وأخذت عينات من الكبد والرغامي والطحال والتوتة ولوز الأعورين ولطح باير وجراب فابريشيا لفحص التغيرات النسجية، أعيدت هذه العملية كل (24) ساعة ولغاية (120) ساعة بعد الحقن، كذلك أخذت عينات من لطح باير والتوتة للفحص بالمجهر الإلكتروني النافذ من الأفراخ التي تم تشريحها بعد (72) ساعة من الخمج التجريبي.

أشارت النتائج إلى تلف نسيج الكبد وتغلظ الأنوية ووجود الأجسام الاشمالية النواتية القاعدية، وقلة الخلايا اللمفية في الطحال والتوتة وجراب فابريشيا وتغلظ أنوية الخلايا اللمفية في لطح باير ولوز الأعورين وانسلاخ بطانة الرغامي فضلاً عن تكثف لمفي واحتقان الأوعية الدموية.

أظهرت دراسة المجهر الإلكتروني انسلاخاً وتمزقاً في غلاف النواة والغشاء السايوبلازمي وتجمع وتغلظ كروماتين النواة ووجود الأجسام الاشمالية النواتية وانتفاخ المايوتوكونديريا واختفاء الأعراف Cristae وتحلل كامل محتويات السايوبلازم، وذلك في كل من لطح باير وغدة التوتة.

يُستنتج مما تقدم تأثر المناعة الخلطية والخلوية بصورة مباشرة عند الإصابة بالمسبب المرضي لمتلازمة التهاب الكبد وموه التامور.

المقدمة

تعد متلازمة التهاب الكبد وموه التامور من الأمراض المهمة التي تسبب خسائر كبيرة في الدجاج وخاصة دجاج اللحم. تناولت الكثير من الدراسات جوانب الأمراض والأمراض منها (1، 2، 15) ولكن الدراسات التي تناولت جانب الشيط المناعي قليلة منها (13، 18) وتركزت على تأثيرات المسبب في الكبد وجراب فابريشيا والطحال والتوتة واعدت المسبب من المثبطات المناعية الثانوية (25) إذ تحدث المتلازمة في أحيان كثيرة بعد الإصابة بالمثبطات المناعية وخاصة مرض كمبوورو والإصابة بسموم الافلا. لذا اقتضت الحاجة إلى دراسة تأثير المسبب في الأعضاء اللمفية وخاصة جراب فابريشيا والطحال ولطح باير واللوز الاعورية والتوتة من حيث التأثيرات السلبية التي تحدث في أنسجة هذه الأعضاء.

تميز المرض بتجمع سائل رائق تبي اللون مائل الى الاصفرار في محفظة القلب و التهاب الكبد وتضخمه ووجود بؤر نزفية على سطحه وتضخم وشحوب الكليتين وتوسع النبيبات الكلوية وامتلائها بأملح اليوريا (4، 24). ذكر Ashraf وجماعته (6) ان الكبد والطحال والكلية هي الأعضاء الأولى التي يبدأ فيها انتشار فايروس

* الشركة العامة للبيطرة - وزارة الزراعة - بغداد، العراق.

** كلية الطب البيطري - جامعة بغداد - بغداد، العراق.

الادينو المجموعة الأولى النمط المصلي الرابع، ولاحظ Naeه وجماعته (18) وجود فايروس الادينو المسبب لتلازمة التهاب الكبد وموه التامور في الكبد والطحال اثناء المدة من 12-60 ساعة وفي جراب فابريشيا والتوتة اثناء المدة مسن 12-48 ساعة، وأشاروا إلى ان للفايروس ألفة عالية ويجب التوضع Tropism إلى الأنسجة اللمفية مما يؤدي إلى حالة التثبيط المناعي.

ونظراً لعدم وجود دراسة باثولوجية بالجهر الإلكتروني لمعرفة تأثير الفايروس ومشاهدته في لطح باير وغدة التوتة، اقتضت الحاجة إلى دراسة هذه التأثيرات في الجهر الإلكتروني وإمكان مشاهدة الفايروس في هذه الأنسجة التي تعد دراسة رائدة ولأول مرة.

المواد وطرائق البحث

الأفراخ:

تم الحصول على أفراخ فروج اللحم إناثاً وذكوراً نوع (فاوبرو) من المفاقس الأهلية، وتم التأكد من ان أمهاتها غير ملقحة بلفاح HHS ونقلت إلى المكان المهيأ لاستقبالها. تم الحصول على المستضد المستخدم في التجربة من حالات مصابة حقلياً بعمر مبكر (10) أيام من احد الحقول الأهلية في محافظة بغداد، وقد تكررت فيه الإصابة سابقاً. جمعت أكباد الأفراخ المصابة بعد ان تم تشخيص المرض اعتماداً على نسبة الهلاكات العالية والآفات المرضية العيانية والتغيرات النسجية ومشاهدة الأجسام الاشتمالية النواتية القاعدية في خلايا الكبد، وحفظت الأكباد بدرجة - 20 حين الاستعمال. تم تقطيع الأكباد إلى قطع صغيرة وسحنت في هاون زجاجي وأضيف لها محلول الملح الدائري الفوسفاتي المعقم Phosphate Buffer Saline وذلك يجعل العالق بنسبة 20% (وزن/حجم) كما ذكر Chandra وجماعته (9) وتم تحضير السائل الطافي كما ذكر Akhtar (5).

تقرير المستضد

تم تخميج 5 أفراخ بعمر 18 يوماً بالمستضد وبجرعة 0.1 مل/فرخ عن طريق الوريد العضدي، بعدها جمعت أكباد الأفراخ المالكة (في اليوم الرابع بعد الحقن) بعد ان تم تشخيص المرض وعملت كالسابق وحفظ السائل الطافي. أعيد تخميج 5 أفراخ أخرى بالسائل الطافي وبالعمر والجرعة والطريقة انفسهم، جمعت أكباد الأفراخ المالكة (بعد 30 ساعة فقط من الحقن) واستخدمت لتحضير المستضد المستعمل في التجربة كما تم سابقاً وحفظ بدرجة - 20 م حين الاستعمال. تم تسجيل العلامات السريرية والتغيرات المرضية العيانية ووقت حدوث الهلاك كافة.

تمت معايرة المستضد بحساب الجرعة المميتة لـ 50% من الأفراخ Chicken Lethal Dose (CLD₅₀) حسب طريقة (21).

التجربة

تم تخميج 50 فرخاً بعمر (18 يوماً) كما ذكر Khawaja وجماعته (14) بالمستضد المحضر بجرعة 0.1 مل/فرخ الحاوي على 10⁴ LD₅₀ عن طريق العضلة. ومن ثم متابعة الأفراخ، وأخذت مسحات دموية من 6 أفراخ (3 إناث و 3 ذكور) بعد 24 ساعة من الحقن بعدها تم تشريحها وتسجيل الآفات المرضية وأخذت نماذج من الكبد والطحال والتوتة وجراب فابريشيا ولطح باير ولوز الاعورين وحفظت في محلول الفورمالين الدائري المتعادل 10% لغرض الفحص النسجي.

وأخذت أيضاً نماذج من التوتة ولطح باير بحجم 1 ملم³ وحفظت في محلول الكلوترالديهايد 2.5% والمخفف بدائري الفوسفات ذو الأس الهيدروجيني 7.4 لغرض الفحص بالجهر الإلكتروني النافذ.

أعيدت العمليات السابقة نفسها بعد 48 و 72 و 96 و 120 ساعة من الإصابة التجريبية، وذلك بتشريح 6 أفراخ في كل مرة بعدها تمت متابعة الأفراخ المتبقية لغاية اليوم الثاني عشر بعد الإصابة بعدها تم تشريحها جميعاً وإجراء الصفة التشريحية.

وفي الوقت نفسه تم حقن 50 فرخاً بعمر 18 يوماً محلول الملح الدائري الفوسفاتي المعقم بجرعة 0.2 مل بالعضل كمجموعة سيطرة وتشريح 6 أفراخ يومياً (3 إناث و 3 ذكور) لمدة 5 أيام، وأخذ نماذج من الكبد وحفظها بالفورمالين المتعادل الدائري 10% لغرض الفحص النسجي ومتابعة الأفراخ المتبقية يومياً لغاية اليوم الثاني عشر بعد الحقن، بعدها تم تشريحها جميعاً. تم تسجيل العلامات السريرية والآفات المرضية والهلاكات يومياً الأفراخ جميعها. أجريت عملية تحضير القوالب الشمعية للأنسجة وتحضير الشرائح حسب الطريقة التقليدية وبسمك 5 مايكرون وصبغت بصبغة الهيماتوكسلين والأيوسين لغرض الفحص النسجي.

تحضير العينات للفحص بالمجهر الإلكتروني النافذ

أجريت العمليات حسب طريقة Glauert (12). ولغرض تحديد الموقع المراد فحصه أجريت عملية تقطيع المقاطع السمكية سمك 1 مايكرومتر بجهاز القطع المستدق Reichert-jung ultra cut ورفعت على شرائح زجاجية ليم بعدها وضع الشرائح على صفيحة ساخنة Hot plate كي تجف، صبغت بعدها بمحلول المثيل الأزرق 1% ثم فحصت بالمجهر الضوئي وتم تحديد مواقع الفحص، بعدها قطعت إلى مقاطع رقيقة Thin section ذات سمك تتراوح بين 70-90 نانومتر وتم أخذ المقاطع الفضية - الذهبية ورفعت على مشابك نحاسية Grids ولونت بمادة خلات اليورانيل لمدة ساعة ونصف بعدها غسلت بطريقة الغسل النفاذ بكحول ذي تركيز 70% صبغت بعدها بمادة سترات الرصاص لمدة 20 دقيقة بعد ذلك غسلت بالماء المقطر وتوكت كي تجف لتفحص بعدها بالمجهر الإلكتروني النافذ نوع Philips CM10 وتصوير التغيرات المرضية الخلوية بتكبيرات مختلفة.

النتائج والمناقشة

تمير المستضد بالأفراخ

عند حقن الأفراخ للمرة الأولى بعمر 18 يوماً عن طريق الوريد بالمستضد وجرعة 0.1 مل/طير لوحظت العلامات السريرية المتمثلة بمخمول ثلاثة أفراخ وعدم انتظام الريش وانغلاق العينين وعدم الرغبة في تناول العلف وشرب الماء ووجود إسهال أبيض مصفر بعد 4 أيام من أحداث الخمج التجريبي هلاك خمسة أفراخ بعد 4-5 أيام من التخميج. أظهرت الصفة التشريحية للأفراخ الهالكة تضخم واحتقان الكبد ووجود نقط نرفية ونخرية على سطحه واحتقان التوتة وضمور الطحال واحتقان الرئتين وموه التامور وترهل القلب وتضخم جراب فابريشيا وكبر حجم الكليتين وبرزو النبيات الكلوية وامتلاء الحالبين بمادة اليوريت واحتقان بسيط في الرغامى والتهاب الأمعاء ووجود احتقان في عدة مناطق ومنها اللفائفي. نسيجياً تمت مشاهدة أعداد كبيرة من الأجسام الاشمالية النواتية القاعدية في أنوية الخلايا الكبدية بعضها محاط بمالة شفافة.

أما في التميرية الثانية للمستضد في الأفراخ فقد سجل أول هلاك مفاجئ لثلاثة أفراخ بعد 30 ساعة فقط من الحقن أما باقي الأفراخ فقد هلكت بعد 36-40 ساعة من الحقن، الأعراض المرضية والتغيرات النسجية السابقة نفسها تمت ملاحظتها في الأفراخ الهالكة.

معايرة المستضد

كانت الجرعة القاتلة لنصف عدد الأفراخ المخمجة بالمستضد LD_{50} هي $10^4/0.1ml$.

العلامات السريرية لأفراخ التجربة

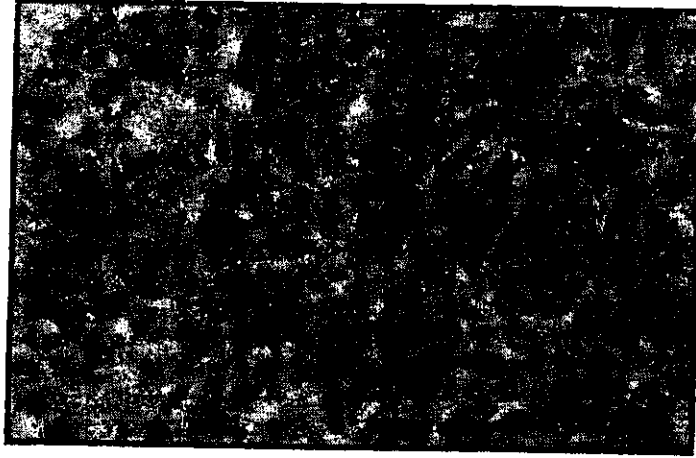
لوحظت العلامات السريرية السابقة على الأفراخ بعد حقنها بالمستضد الذي تمت معايرته بعد مرور 72 ساعة تقريباً. أما أول حدوث للهلاكات فقد سجل بعد مرور 60 ساعة من أحداث الخمج التجريبي لثلاثة أفراخ. ولم تسجل أية حالة هلاك في اليوم السادس والأيام التي تلته بعد الإصابة. ولم يلاحظ على مجموعة السيطرة أية علامات سريرية ولم يتم تسجيل أي هلاك طيلة مدة التجربة.

الآفات العيانية

بعد مرور 24 ساعة من الحقن تم أخذ 6 أفراخ (3 إناث و 3 ذكور) اختبرت بصورة عشوائية وبعد إجراء الصفة التشريحية لم يلاحظ آفات مرضية مميزة عدا احتقان بسيط في الكبد لأربعة أفراخ واحتقان بسيط في الرغامى. بعد مرور 48 ساعة من الحقن تم أخذ 6 أفراخ أخرى ولوحظ احتقان شديد في الكبد للأفراخ جميعها كذلك احتقان واضح في الرغامى وتضخم جراب فابريشيا. لوحظ هلاك 3 أفراخ بعد مرور 60 ساعة من الحقن ولوحظ احتقان وتضخم الكبد ووجود نقط نزفية على سطحه، ووجود كمية كبيرة من السوائل حول القلب تراوحت بين (7-10) مل مع تغيير شكل القلب وترهله واحتقان التوتة وتضخم جراب فابريشيا وتضخم واحتقان الكليتين مع بروز النبيبات الكلوية بصورة واضحة وامتلاء الحالبين بأملاح اليوريت وضمور الطحال واحتقانه والتهاب الأمعاء ووجود احتقان في اللفانفي وخاصة الجزء بين الأعورين واحتقان الرئتين. بعد مرور 72 ساعة لوحظ حول واضح على 7 أفراخ ولوحظت الآفات المرضية السابقة نفسها إضافة إلى تغيير لون تحت الجلد إلى الأصفر وهشاشة الكبد والكلية وازدياد كمية السوائل حول القلب إلى (15) مل. بعد مرور 96 ساعة من الحقن تم تشريح 6 أفراخ أخرى اثنان منها كانت حاملة أظهرت جميعها الآفات المرضية نفسها عدا قلة كمية السوائل حول القلب. وبعد مرور 120 ساعة من الحقن تم تشريح 6 أفراخ أخرى تمت ملاحظة الآفات المرضية السابقة نفسها في خمسة أفراخ منها. تمت ملاحظة الآفات المرضية السابقة نفسها بعد مرور 144 و 168 ساعة من الحقن ولم تلاحظ أي آفات مرضية بعد اليوم السابع ولغاية اليوم الثاني عشر بعد الحقن. أما مجموعة السيطرة فلم يشاهد فيها أية آفات مرضية مميزة للمرض.

التغيرات النسجية

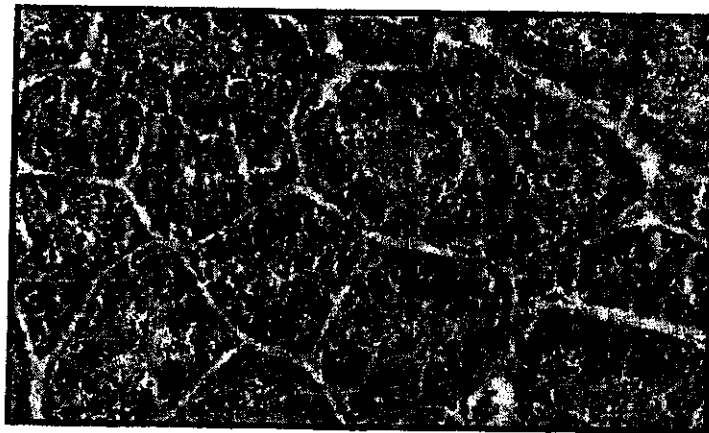
الكبد: تموت الخلايا الكبدية (مخر تجلطي) مع تغلظ أنوية الخلايا، التكفف اللمفي حول الأوعية الدموية واحتقانها إضافة إلى الترف ووجود الأجسام الاشتمالية النواتية القاعدية (صورة 1).
جراب فابريشيا: لوحظ وجود الخبز بين الجريبات اللمفية (صورة 2) إضافة إلى التغلظ في الأنوية وتموت الخلايا اللمفية. لوحظ التلف الشديد في لب الجريبات نتيجة لتموت الخلايا اللمفية تاركة فراغات في اللب مع التغلظ الشديد في الخلايا اللمفية في قشرة الجريب مما يعطيها الصبغة الداكنة (صورة 3).
اللوذ الأعورية ولطح باير: بعد مرور 24 ساعة من الإصابة لوحظ تغلظ الخلايا اللمفية مع ملاحظة وجود الأجسام الاشتمالية القاعدية في اللوز الأعورية، إضافة إلى الخبز.
التوتة: لوحظ الترف في نسيج التوتة مع تغلظ أنوية الخلايا اللمفية بعد 72 ساعة من الإصابة ثم ازدادت هذه التغيرات بعد 96 ساعة من الإصابة مع قلة (نضوب) Depletion الخلايا اللمفية مما أدى إلى ترك فراغات كثيرة (صورة 4).



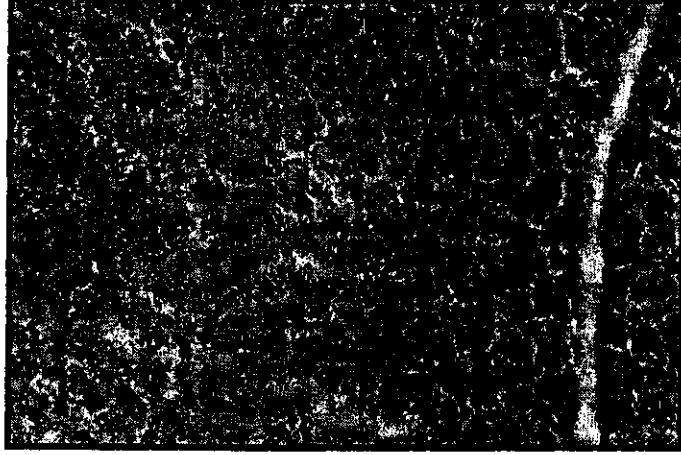
صورة 1: مقطع في الكبد بعد 72 ساعة من الحقن نرف وتفجى الخلايا الكبدية مع وجود الأجسام الاشتمالية النواتية القاعدية (↑) (400X-H&E)



(صورة 2) خرب بين الجريبات اللمفية وتغلظ أنوية الخلايا اللمفية في القشرة واللب للجريبات اللمفية مع قلة ملحوظة في الخلايا اللمفية لللب (200X - H & E)



صورة 3: مقطع في جراب فابريشيا بعد 72 ساعة من الحقن نلف ونضوب شديدين في الجريبات وخاصة اللب، (200X - H & E)



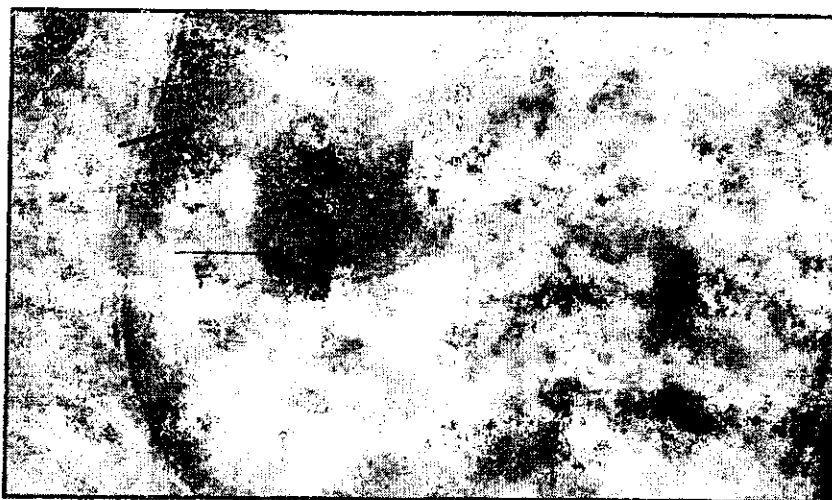
صورة 4: مقطع في التوتة بعد 96 ساعة من الحقن تغلظ الخلايا اللمفية في القشرة مع تلف ونضوب الخلايا اللمفية في اللب لاحظ الترف أيضاً (H & E - 200X)

المجهر الإلكتروني

الطحال: ظهر الطحال سوياً بعد 24 ساعة من الإصابة ثم أخذت الخلايا اللمفية بالتغلظ بعد 48 ساعة من الإصابة مع نضوبها ولوحظت الأجسام الاشتmale بعد 120 ساعة من الإصابة.

لطخ باير: نتيجة لبداية تموت الخلايا لوحظ تجمع غير طبيعي للكروماتين على شكل كتل في النواة وخاصة قرب الغلاف النووي مع تجمعات الأجسام الاشتmale المتمثلة بكتل محاطة بهالة (صورة 5). بداية تمزق غلاف النواة والسايوبلازم وعلى شكل انسلخات **Blebbing** وانفخات **Ballooning** إضافة إلى تمكك الشبكة الاندوبلازمية الخشنة **Rough Endoplasmic Reticulum** (صورة 6)، ولوحظ أيضاً أماكن عديدة لتمزق غلاف النواة (صورة 2)، وانفخ المايوكونديريا والاختفاء التدريجي للأعراف **Cristae** (صورة 6).

التوتة: ان الأذى الشديد واضح على التوتة من خلال التلف الحاصل في الأنوية والسايوبلازم، إذ ان التحلل واضح على مكونات السايوبلازم جميعها وخاصة المايوكونديريا، إذ الاختفاء الكامل للأعراف، كما ان الكروماتين متجمع على شكل كتل في معظم الأنوية خاصة قرب غلاف النواة إضافة إلى بداية تحلل وتمزق غلاف النواة مما يظهر تموج وانفخ الغلاف مع تمدده بشكل أكبر **Ballooning** في أماكن أخرى كإشارة للتمزق الذي سيحصل له. ولوحظ بعض الكروماتين المتغلظ محاط بهالة وهو على الأغلب تجمعات للفايروس (الأجسام الاشتmale).



صورة 5: مقطع في لطخ باير بعد 72 ساعة من الحقن أجسام اشمالية (↑) مع تجمعات الكروماتين (↑) (34000X-EM)



صورة 6 : بداية انسلاخ وتعدد الغلاف النووي (↑) تجمع الكروماتين خاصة قرب الغلاف النووي (↑) وتجمعات
جزيئات فايروسية (سهم بقاعدة) انفاخ المايوكونديريا (↑) تمزق غشاء
السايتوبلازم (△) (16000X-EM)

إن أول هلاك مفاجئ لأفراخ التجربة بعد حقنها بالمستضد المعايير بجرعة 0.2 مل / 10^4 LD_{50%} سجل بعد 60 ساعة من الحقن دون ظهور أية علامات سريرية مع وجود الآفات المرضية المميزة وخاصة موه التامور، وهذا يتفق مع ما ذكره Kumar وجماعته (15) ، McFerran (16). ان سبب الهلاك المفاجئ قد يعزى إلى قصور الكبد الحاد كون الكبد العضو الرئيس المستهدف من قبل الفايروس (19) . سجل أول ظهور للعلامات السريرية في أفراخ التجربة بعد 72 ساعة من الحقن واستمر تسجيل ومشاهدة الآفات المرضية لغاية اليوم السابع بعد الحقن بعدها لم يسجل أي هلاك أو آفات مرضية وانفق ذلك مع ما ذكره Kumar وجماعته (15) وهذا بخلاف ما ذكر Akhtar (5) اذ لاحظ ان مدة الحضانة للمرض هي (9.5-14.5) يوم ومدة المرض (10-15) يوما

في الإصابة التجريبية، وهذا يدل على ان الفايروس الموجود في العراق من النوع الضاري نظراً لقصر مدة حضائه ويدل أيضاً على انه يختلف في الضراوة بين منطقة وأخرى.

أما الآفات العيانية المرضية التي شوهدت في أفراخ التجربة فقد جاءت مؤكدة لما ذكره حماس وليث (1)، عزو (2)، Raghava و Ganesh (11)، Kumar وجماعته (15)، Shane (23). أما تضخم جراب فابريشيا الذي لوحظ في هذه الدراسة فقد اتفق مع ما ذكر Kumar وجماعته (15)، واختلف مع ما ذكره Asran وجماعته (7)، اذ لاحظوا ضمور جراب فابريشيا، ان التضخم الذي حصل يعود أساساً إلى الرذمة الحاصلة في جراب فابريشيا والتي يحدثها المسبب في حين ان الضمور الحاصل في الدراسة المذكورة آنفاً ربما يعود إلى ان الإصابة قد حصلت بعد الإصابة بأحد الأمراض المؤدية إلى التثبيط المناعي وخاصة مرض كمبورو.

ان الاحتمان والنزف الملحوظ في التوتة توافقت مع ما ذكره Asrani وجماعته (7)، Toro وجماعته (25). في حين ذكر Muench و Reed (21) ان التوتة لم تظهر أي تغييرات مرضية في الأفراخ المخمجة، وان التغييرات المرضية الشديدة الملحوظة قد تكون بسبب شدة ضراوة الفايروس المستعمل في هذه الدراسة وهذا ما أكدته الدراسة النسجية وشدة التلف والرف الحاصل في التوتة. أما شحوب الطحجال وضموره الذي حدث بسبب تحطم خلايا الدم الحمراء وتغلظ ونضوب الخلايا اللمفية فقد اتفق مع ما ذكره Cowen (10)، Shane (22) واختلف مع ما ذكره Asrani وجماعته (7)، اذ لاحظوا تضخم الطحجال.

التغييرات النسجية التي تمت ملاحظتها على الكبد جاءت مؤكدة ومطابقة لما ذكره حماس وليث (1)، Akhtar (5)، وان ازدياد عدد الأجسام الاشتمالية النواتية القاعدية مع تقدم مدة المرض تشابه مع ما ذكره عزو (2). ان الارتشاح الشديد للخلايا اللمفية مع احتمال وجود الأجسام الاشتمالية القاعدية في اللوز الأوروية السذي لوحظ بعد 24 ساعة من الإصابة، والتغلظ في أنوية الخلايا اللمفية والتلف في أنسجة اللوز الأوروية ولطخ باير بعد 48 ساعة من الإصابة وازدياد تلك التغييرات والتلف الشديد في أنسجة الظهارة خاصة لوز الأورين بعد 72 ساعة من الإصابة يشير إلى الضرر الذي أحدثه الفايروس في تلك الأعضاء نتيجة استهدافه وجوده وتكاثره في هذه الأعضاء، واتفق ذلك جزئياً مع ما أشار إليه Nakamura وجماعته (19) اذ لاحظوا وجود الأجسام الاشتمالية في بطانة خلايا الأعور والعفج وما ذكره عزو (1). اذ وجود الأجسام الاشتمالية النواتية في الخلايا المعوية. كما ان العضو المفضل لتكاثر الفايروس هو اللفائفي (15) مما أدى إلى تلفه.

أما التغييرات النسجية في جراب فابريشيا والذي لوحظ أيضاً من قبل Kumar وجماعته (15) ما هو إلا مؤشر ودليل على ان هذا العضو اللمفي الرئيس من الأعضاء المفضلة والمستهدفة من قبل الفايروس وهذا ما ذكره Naeem وجماعته (18) ان النضوب اللمفي في جراب فابريشيا أشار إليه Kumar وجماعته (15) و Nakamura وجماعته (19) ان ما لوحظ في نسيج التوتة من تغييرات يدل أيضاً على شمول التوتة بالأذى ولأنها من الأعضاء المفضلة للفايروس واتفق ذلك مع ما ذكره Naeem وجماعته (18) ومن ثم فإن الفايروس يؤثر في المناعة الخلوية أيضاً إضافة إلى المناعة الخلطية وان النضوب اللمفي في التوتة لوحظ من قبل Nakamura وجماعته (19) في حين أشار McFerran (16). ان التوتة لم تظهر أي تغييرات مرضية.

ان ما لوحظ في الطحجال من تغييرات نسجية بدءاً بتغلظ الأنوية التي لاحظها أيضاً Odisho وجماعته (20) ونضوب الخلايا اللمفية بعد 48 ساعة من الإصابة وملاحظة الأجسام الاشتمالية بعد 120 ساعة من الإصابة يشير إلى وجود الفايروس في هذا العضو واحداثه التلف. وقد أشار إلى النضوب اللمفي في الطحجال أيضاً الباحثون عزو (2) و Akhtar (5) في حين لم يلاحظه Nakamura وجماعته (19) عند إحدائهم الإصابة التجريبية في الأفراخ.

وتمكن **Naeem** وجماعته (18) من عزل الفايروس من جراب فابريشيا والتوتة بعد 48 ساعة ومن الطحال والكبد بعد 60 ساعة من الإصابة التجريبية وتمكنوا من احداث المرض بحقن الأفراخ بمستخلص الأعضاء اللمفية (التوتة ، الطحال ، جراب فابريشيا) بعد 60 ساعة من الحقن في حين لم يتمكنوا من عزله من لسوز الأعورين وأشاروا إلى الانتشار الجهازي للفايروس في مختلف الأعضاء اللمفية ووجود ألفة عالية للفايروس إلى الأعضاء اللمفية مع وجود اختلاف في جهة الألفة إلى تلك الأعضاء دون وجود عوامل مثبطة مناعياً. يدل التلف الشديد في جراب فابريشيا ولطح باير ولوز الأعورين إضافة إلى التوتة على ان للفايروس ألفة لإصابة الأعضاء اللمفية تلك من دون تهيئة الطيور بأي عامل مثبط مناعياً قبل الإصابة، وبالتالي فإن هذا الفايروس يكون من المستضدات الأولية التي تؤثر في المناعة الخلوية والخلطية.

تركزت الدراسات جميعها في المجهر الإلكتروني النافذ على إمكان رؤية فايروس الأدينو المسبب لتلازمة التهاب الكبد وموه التامور في أنوية خلايا الكبد (9، 11، 20) وتميز بشكله المكعب (24) المتناسق **Isometric** والدائري غير المنتظم وبقطر (80-93) نانومتر (8)، وقد تعذر في هذه الدراسة قياس قطر الفايروس بالرغم من مشاهدته لعدم توفر التقنية الفنية المناسبة. كما أشار **Chandra** وجماعته (8) إلى نموت النواة والسايوبلازم من خلال تلف غلاف النواة وغشاء السايوبلازم واختفاء مكونات السايوبلازم فضلاً عن تلف محتويات النواة. ولاحظ **Cheema** وجماعته (9) تجمع الكروماتين في النواة ويعزى ذلك إلى تكاثر الفايروس فيها، وبذلك فليس هناك دراسة بالمجهر الإلكتروني عن مشاهدة الفايروس والتلف الحاصل في الأعضاء والأنسجة اللمفية وهي لطح باير والتوتة وهذا ما ركزت عليه دراستنا هذه التي تعد الأولى. كانت التغيرات الملحوظة في دراسة المجهر الإلكتروني في لطح باير والتوتة متشابهة في الأنوية والسايوبلازم لأنسجة كلا العضوين، فقد أظهرت الأنوية تغلظ الكروماتين وتجمعه خاصة قرب الغلاف النووي بسبب تأثير الفايروس، إذ تمثل هذه التجمعات الأجسام الاشتماكية أي تجمعات الفايروس. إن التغلظات جميعها في الكروماتين سواء أكانت الصغيرة المتوزعة في عموم النواة أم الكبيرة هي تجمعات الفايروس تأثيراته وهذا ما أكدته **Ganesh و Raghavan (11)** في خلايا الكبد أيضاً.

يعد تغلظ الكروماتين وتجمعه في النواة خاصة قرب الغلاف النووي بداية لنموت النواة يعقبها موت الخلية بأكملها، إذ يتبع تجمع الكروماتين انسلاخ الغلاف المتمثل بتموجه ثم يزداد التلف مؤدياً إلى انتفاخه واتساعه على شكل بروزات بعدها ينفجر مؤدياً إلى تلف النواة. وشهد الفايروس في أنوية خلايا أنسجة كلا العضوين وبين تجمعات الكروماتين المتغلظ وان أشد التغيرات المرضية النسجية حدثت بعد 72 ساعة من الإصابة كما تمت ملاحظتها من خلال المجهر الضوئي لذا كانت التغيرات المرضية التي تمت مشاهدتها في المجهر الإلكتروني شديدة في سايوبلازم الخلايا في كل من لطح باير والتوتة إذ شوهد الزيف من خلال وجود خلايا الدم الحمر في نسيج لطح باير فضلاً عن انتفاخ المتقدرات (المايوكونديريا) واختفاء الأعراف مما يعني تموت الخلايا الأكيد إذ لوحظ تلف مولدات الطاقة المتمثلة بالمتقدرات مع تلف شديد في الشبكة الاندوبلازمية الخشنة وأجسام كولجي وأخيراً تلف غشاء السايوبلازم، والملاحظ ان تلف الخلية يبدأ بتغير مرضي في النواة يتبعه التلف المرضي في السايوبلازم مما يعني تكاثر الفايروس في النواة ثم خروج الفايروس إلى السايوبلازم ثم تحرره بعد تحلل الخلية وتموتها وانتقاله إلى الخلية السليمة الأخرى وهكذا يستمر تكاثر الفايروس في النسيج واحداث التلف فيه.

إن هذه التغيرات الحاصلة هي تأكيد على التلف الحاصل في نسيج لطح باير والتوتة اللمفين ومن ثم فإن المسبب يؤثر بصورة مباشرة وسليماً في المناعة الخلطية (لطح باير) والمناعة الخلوية (التوتة) وان هذا التلف يحدث مباشرة بعد الإصابة بالفايروس وبذا يعد المسبب المرضي لتلازمة التهاب الكبد وموه التامور أي فايروس الأدينو من المسببات

الأولية والمباشرة المتبذبة للمناعة الخلطية والخلوية دون وجود عوامل متبذبة مناعياً مما يؤدي بالتالي إلى جعل الطير في حالة صحية متردية تسمح بتلقي الإصابات الفايروسية والبكتيرية والمايكوبلازما جميعها.

المصادر

- 1- خماس، عماد جواد و ليث ميخائيل حنا (2000). متلازمة التهاب الكبد وموه التامور والتلقيح بعسالق الكبد المصاب. المجلة الطبية البيطرية العراقية، 24 (2) : 54-66.
- 2- عزو، عدي سامي بيون (2001). امراضية متلازمة التهاب الكبد وموه التامور احدث تجريبياً في أفراخ اللحم، رسالة ماجستير - كلية الطب البيطري - جامعة الموصل، العراق.
- 3- Abdul Aziz, T.A. and S.Y. Hasan, (1995). Hydropericardium syndrome in broiler chickens: Its contagious nature and pathology. Res. Vet. Sci., 59:219-221.
- 4- Afzal, M. and I. Ahmad (1990). Efficacy of an inactivated vaccine against hydropericardium syndrome in broilers. Vet. Rec., 126: 59-60.
- 5- Akhtar, S. (1995). Lateral spread of aetiologic agents of hydropericardium syndrome in broiler chickens. Vet. Rec., 136:118-120.
- 6- Ashraf, S.; S.A. Malik and K. Naeem (2000). Persistence and transmission pattern of avian adenovirus 4 in broiler breeders. Pakistan J. Bio. Sci., 3(4) : 633-635
- 7- Asrani, R.K.; V.K. Gupta; S.K. Sharma; S.P. Singh and R.C. Katoch (1997). Hydropericardium hepatopathy syndrome in Asian poultry Vet. Rec., 141 : 271-273.
- 8- Chandra, R.; S.K. Shukla; M. Kumarand; S.K. Garg (1997). Electron microscopic demonstration of an adenovirus in the hepatocytes of birds experimentally infected with hydropericardium syndrome. Vet. Rec., 140 (3) :70-71.
- 9- Cheema, A.H.; J. Ahmad and M. Afzal (1989). An adenovirus infection of poultry in Pakistan. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 8:789-795.
- 10- Cowen, B.S. (1992). Inclusion body hepatitis anaemia and hydropericardium syndrome : Aetiology and control. World Poult. Sci. J., 48 : 247-254.
- 11- Ganesh, K. and R. Raghavan (2000). Hydropericardium hepatitis syndrome of broiler poultry : Current status of research. Vet. Sci., 68: 201-206.
- 12- Glauert, A.M. (1975). Practical Methods, In: Electron Microscope Vol. 2. North Holland. Publishing Company. Amsterdam. Oxford. American Elsevier Publishing Co. INC. New York.
- 13- Khamas, E.J. (2002). Immunosuppression and bacterial isolation after infection with hydropericardium hepatitis syndrome in broiler chickens. Iraqi Journal. of Veterinary Sci 1(1).
- 14- Khawaja, D.A.; S. Ahmad ; M. A. Rauf; M. Zulfqar ; Mahmood, S.M. and Hasan, M. (1988). Isolation of an adeno virus from hydropericardium syndrome in broiler chicks. Pakistan J. Vet. Res. 1 : 2-17.
- 15- Kumar, R.; Chandra, R.; Shukla, S.K.; Agrawal, D.K. and Kumar, M. (1997). Hydropericardium syndrome in India: A preliminary study on causative agent and control of disease by inactivated and autogenous vaccine. Trop. Anim. Health and prod., 29 (3): 158: 164

- 16- J.B. McFerran (1998). Adenoviruses. In : Isolation and Identification of Avian Pathogens. 4th ed. American Assoc. of Avian Pathologists. USA. Pp.: 100-105.
- 17- Muneer, M.A.; M. Ajmal ; M. Arshad; M.D. Ahmad; Z.I. Chaudhary and T.M. Khan (1989). Preliminary studies on hydropericardium syndrome in broilers in Pakistan. Zootecnica Intern. May. Pp.46-48
Naeem, K.; Niazi, T.; Malik. S.A. and Cheema. A.H. (1995b). Immuno suppressive potential and pathogenicity of an avian adenovirus isolate involved in hydropericardium syndrome in broilers. Avian Dis., 39 : 723-728.
- 18- Naeem, K.; T.Niazi; S.A. Malik and A.H. Cheema. (1995b). Immuno suppressive potential and pathogenicity of an avian adenovirus isolate involved in hydropericardium syndrome in broilers. Avian Dis., 39:723-728.
- 19- Nakamura, K.; M. Mase; S. Yamagushi; T. Shibahara and N. Yuasa (1999). Pathologic study of specific pathogen free chicks and hens inoculated with adenovirus isolated from hydropericardium syndrome. Avian Dis. 43 : 414-423.
- 20- Odisho, S.M; Al-Bana, A. and Majeed, A.K. (1995). Hydropericardium in broiler chicks in Iraq: Isolation and identification of causative virus. Iraqi J. Vet. Med., 19-20 (1) : 130-141.
- 21- Reed, L.J.; Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty percent end points. Am. J. Hygiene 27 (3) : 493-498.
- 22- Shane, S.M. (1992). New viral disease for the poultry industry in the 90s. significant adenovirus in broilers. Zoo. Intern. Pp.64-68.
- 23- Shane, S.M. (1996). Hydropericardium hepatitis syndrome, the current world situation. Zintechnique Intern. 29 : 20-27.
- 24- Shane, S.M. and M.S. Jaffery (1997). Hydropericardium hepatitis syndrome. In : Disease of Poultry. Calnek, B.W.; Barnes, H.J.; Beard, C.W.
- 25- Toro, H.; Gonzalez, C.; Cerda, L.; Hess, M.; Reyes, E. and Geisse, C. (2000). Chicken anaemia virus and fowl adenoviruses: Association to induce the inclusion body hepatitis / hydropericardium syndrome. Avian Dis. 44 : 51-5

A PATHOLOGICAL STUDY OF HYDROPERICARDIUM HEPATITIS SYNDROME (HHS) IN BROILERS

N. J. Suddani

E. . Khammas

ABSTRACT

Liver extract has been taken from clinically diagnosed Hydropencardium–Hepatitis Syndrome (HHS) cases. The extract was passed twice in 18 day old chicks, then the lethal dose 50% was determined which was (104 /0.1ml). A total of fifty chicks, 18 day old, were infected with 0.1 ml contains LD₅₀. Six chicks have randomly been chosen, 3 males and 3 females daily, for consecutive five possessive days and sacrificed. Pathological changes were studied and samples from liver, trachea, spleen, pyere's patches, cecal tonsils, bursa of fabricius (BF) and thymus were taken for histopathological examination. Samples of pyere's patches and thymus were taken from chicks that have been killed 72 hours post infection for electron microscopy (EM) study. Results showed severe damage in liver tissues with nucleic picknosis and presence of intranuclear basophilic inclusion bodies. Lymphocyte depletion in spleen, thymus and BF. Lymphocyte picknosis in pyere's patches and cecal tonsils. Sloughing of tracheal epithelial cells with lymphocyte cuffing and congestion were noticed.

EM study in pyere's patches & thymus revealed blebbing and ballooning of nuclear envelope with disruption of cytoplasm wall. Nuclear chromatin was marginally aggregated near the nuclear envelope, presence of intranuclear inclusion bodies and swollen mitochondria and disappearance of cristae. It was concluded that humoral and cellular immunity were 7affected negatively due to the causative agent of HHS.

** State company of Vet. – Ministry of Agric.- Baghdad, Iraq.

** College of Vet. Medicine.- Baghdad Univ.- Baghdad, Iraq .