مجلة الزراعة العراقية مجلد١٣ عدد١ ص٥٦-٦٠ كانون الثاني/٢٠٠٨

تحديد المستوى المناعي الأمي (maternal antibodies) لمرض الكمبورا IBD في حقول الدواجن بفحص (ELISA)

محمد حسن حسين بدي منهل حبيب سلمان سعاد عابد عبد الوهاب

الملخص

أظهرت نتائج الدراسة بأن هناك تبايناً كبيراً في ستوى المناعة الأمية لمرض الكمبورا باستخدام فحص الأليزا ٤٩٥٧ حيث بلغت نسبة النماذج ذات المستوى المناعي العالي ٤٥,٠٠١% ونسبة ٣٢,٤٥٩% للنماذج ذات المستوى المناعي الضعيف أما نسبة النماذج ذات المستوى المناعي المعدوم فقد بلغت ٢١,١٩٨٩% وهذا يدل على أن برامج التلقيحات الوقائية المختلفة والمتبعة في حقول الأمهات أدت الى ظهور هذا التباين في مستوى المناعة المنقولة من الأمهات إلى الأفراخ التي تؤدي عملا سابيا في برامج التلقيحات الوقائية ضد المرض.

المقدمة

من أهم المشاكل التي تواجه تربية الطيور الداجنة مرض الكمبورا. حيث يمتاز الفايروس السبب للمرض بمقاومته العالية للظروف البيئية المختلفة، وقد أثبتت الدراسات احتفاظ الفايروس بقابليته على الإصابة في فرشة حقول الدواجن لمدة ستين يوما وفي مخلفات هذه الحقول المصابة لمده قد تصل إلى مائة وأثنين وعشرين يوما، ووجد أن الطفيليات التي تتغذى على الدم أو الديدان تساهم في نشر المرض (٢، ٣).

ويعرف هذا المرض باسم مرض الكمبورا نسبة إلى المدينة Gumboro التي ظهر فيها لاول مرة في الولايات المتحدة وهو من الأمراض الفايروسية الخطيرة التي تصيب الأفراخ بأعمار من ٣-٦ أسابيع عادة ولكن يمكن أن يصيب أفراخا بأعمار اصغر أو اكبر. ويعتمد ظهور هذا المرض على وجود جراب فابريشيا وعمله. وينتشر المرض في البلدان التي تكون فيها تربية الدواجن كثيفة فمنذ اكتشاف المرض سنة ١٩٦٢ ظهرت بحوث عديدة تصفه وتثبت وجوده في معظم بلدان العالم ومن ضمنها منطقتي الشرق الأوسط والعراق (١).

ومن مواصفات هذا الفايروس انه مقاوم للايثر والكلوروفورم ومقاوم لدرجة الحرارة ٥٦ مئوية لمدة ٥ساعات. والفايروس مقاوم أيضا للفورمالين والفينول في التراكيز القليلة لعدة ساعات وتم حديثاً ضم هذا الفايروس إلى عائلة فايروسات برنا Birnaviridiae.

وتشمل مجموعة فايروسات الكمبورا نوعين مصليين مختلفين. مصل١(Sero type 1) ومصل ٢ (Sero type 2) ولا يمكن التمييز بين هذين النوعين بطريقة الاستشعاع أو إختبار الأليزا ولا طريقة الترسيب على الأكار (Agar Gel Precipitin) وتوجد طريقة واحدة للتمييز بينهما وهي طريقة تعادل الفايروس بالأمصال المنعة (Virus Neutralization) لأنها الطريقة الوحيدة التي تميز بين البروتين رقم (٢) في فايروسات الكمبورا التي تحتوي على أربعة أنواع من البروتين. والضرب المصلي (١) هو المسبب للأوبئة الشديدة لهذا المرض (١٧).

الشركة العامة للبيطرة – وزارة الزراعة– بغداد، العراق.

تاريخ تسلم البحث: ت١/٢٠٠٤.

تاريخ قبول البحث: ك١/٢٠٠٥.

تعد عمليات التحصينات الوقائية ضد المرض من العوامل الأساسية التي تساعد في السيطرة على المرض والحد من انتشاره (١٤و١٥)، وقد أستخدمت برامج مختلفة وأنواع متعددة من اللقاحات وحسب طبيعة وبائية المرض وضراوة الفايروس في مناطق العالم المختلفة.

تساهم المناعة الأمية maternal antibody وهي المناعة المنقولة من الأمهات إلى الأفراخ في حماية هذه الأفراخ في أثناء المده الأولى من أعمارها ولمدد مختلفة وحسب مستوى هذه المناعة و المعتمدة أصلاً على البرامج المستخدمة في حقول الأمهات، كما وقد تؤدي المناعة المنقولة من الام دوراً سلبياً عند استخدام اللقاحات الحية المضعفة في إخماد فعاليتها على تحفيز الجسم وتكوين الحماية الضرورية (١٠ و١١).

يعد فحص الأليزا من الفحوص المناعية المهمة الذي استخدم لأول مرة عام ١٩٧١من قبل كل من الباحثين Engvall and Perlman لتقدير الكلوبيولين المناعي (IgG) وفي عام ١٩٨٠ قامت إحدى المجموعات العلمية (Marquard et.al). بإدخال هذا الفحص للتحري عن الأجسام المناعية ضد مرض فايروس التهاب الجراب الخمجي في الدجاج أو ما يسمى بمرض الكمبورا (١٢ و ١٨).

يمتاز هذا الفحص بانه من الفحوص المناعية ذات التخصصية والحساسية العالية. وهو سريع وآمن لتقويم الاستجابة أو المستوى المناعي لقطعان الدجاج قبل وبعد التلقيح ضد الأمراض، إضافة إلى انه اقتصادي ويمكن أن يفحص عدد كبير من العينات بوقت قصير باستخدام هذا الفحص.

ويعد الفحص في الوقت الحاضر الطريقة الأكثر شيوعا في تقويم مستوى الأجسام المناعية في قطعان الدجاج، وبناء برامج تلقيحات دقيقة لكل من الأمهات والأبناء. ويتطلب ما لايقل عن ٣٠ عينة مصل لتقويم أي برنامج تلقيح للقاعة الواحدة ضمن الحقل الواحد.

استخدمت تقنية فحص الاليزا في وحدة المناعة/مختبر التشخيص المركزي والتابع للشركة العامة للبيطرة في العراق عام ٢٠٠٠ وكان مخصصا كبداية لفحص عينات بحوث طلبة الدراسات العليا (ماجستير ودكتوراه) وفي عام ٢٠٠١ استخدم الفحص بشكل واسع لقياس المستوى المناعي ضد مرض النيوكاسل والكمبورا لعينات الأمصال المأخوذة من قطعان الدواجن (أفراخ دجاج بياض أو لحم) التابع للشركات الحكومية والأهلية وبسبب الحصار ومشاكل الاستيراد اقتصر الفحص على هذين المرضين.

المواد وطريقة البحث

تم فحص (٤٩٥٧) عينة مصل لأفراخ غير محصنة ضد مرض الكمبورا وبأعمار (٧-٨) أيام في وحدة المناعة/مختبر التشخيص المركزي ومن حقول محافظات القطر المختلفة (أفراخ دجاج بياض أو لحم) وأستخدم فحص (ELISA) لأول مره في المختبر حيث أدخل هذا الفحص في مختبر التشخيص المركزي التابع للشركة العامة للبيطره سنة(٢٠٠٠)،وقد استخدمت عدة التشخيص المنتجة من قبل شركة kirkeggarel and perrg laboratories (KPL) وتم قياس مقدار الكثافة الضوئية optical density لكل عينة على حده وباستخدام جهاز القراءة الخاص بفحص الأليزا ELISA READER وحسب المعادلة التالية:

$$Sp = \frac{\text{sample (O.D)-AVG normal control (O.D)}}{\text{Corrected postive control (cpc) (O.D)}}$$

وقسمت نتائج العينات وحسب قيمة (SP) إلى ثلاث مجاميع :

مستوى مناعي أمي جيد =(٠,٤) فما فوق.

مستوى مناعي أمي ضعيف=(٠,٣٩٩-٠,٣)

مستوى مناعي أمي صفر أو معدوم=(٠,٢٩٩٩) فما دون.

SP= قيمة المستوى المناعي للعينة؛ (O.D) =(optical density).

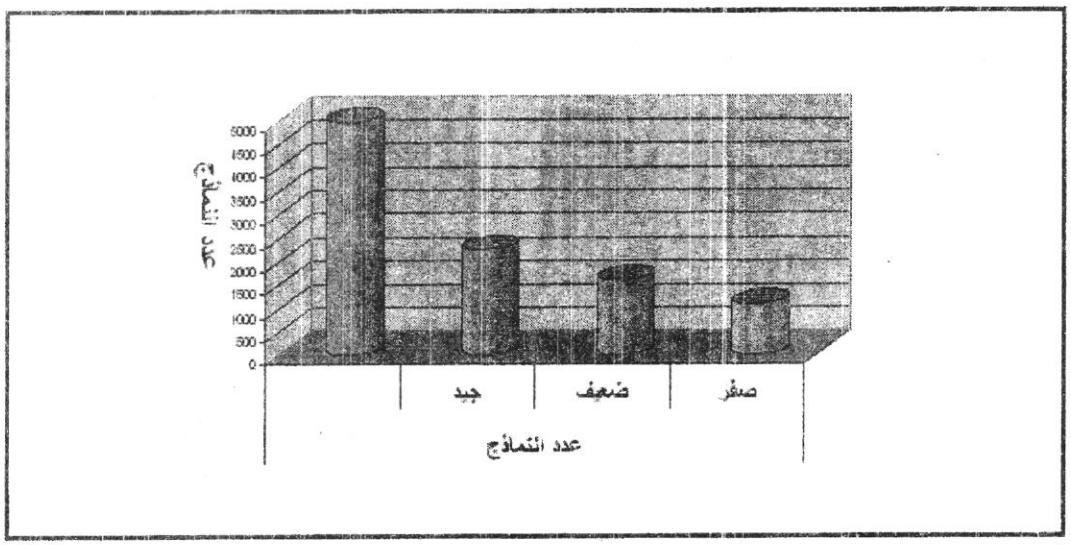
النتائج والمناقشة

استخدمت تقنية فحص الأليزا (ELISA) لدراسة مستوى الأجسام المناعية الأمية، ويعد فحص الأليزا من الفحوص ذات الحساسية والتخصصية العالية (٨، ٩، ١٤).

حيث أظهرت نتائج الدراسة تباينا كبيرا في مستوى الأجسام المناعية الأمية لأمصال الأفراخ قبل تحصينها ضد مرض الكمبورا، حيث بلغت الأمصال ذات المستوى المناعي الجيد أعلى نسبة من مجموع العينات التي تم فحصها ٤٥,٠٠١% بينما بلغت العينات ذات المستوى المناعي الضعيف نسبة ٣٢,٤٥٩% أما العينات التي سجلت انعداماً تاماً للمستوى المناعي فقد بلغت نسبة ٢١,٦٨٩%.

أن المناعة الأمية تؤدي عملاً مهماً لحماية الأفراخ في أثناء المدة الأولى من عمرها (٥، ١٣) إضافة إلى عملها المهم عند إجراء التلقيحة الأولى استخدام اللقاحات الحية المضعفة (٤، ١٦) وهي اللقاحات الأكثر شيوعا واستعمالاً في العراق. حيث تؤدي الأجسام المناعية الأمية عملا سلبياً وتؤثر تأثيراً مباشراً في فعالية اللقاح داخل الجسم وتؤدي إلى عملية تعادل الفايروس اللقاحي وكبت فعاليته لتحفيز الجسم لتكوين أجسام مناعية نتيجة التحصين، فقد لوحظ في حقول الأمهات – وبالرغم من إجراء برامج مكثفة في التحصينات الوقائية لمرض الكمبورا باستخدام لقاحات من مصادر مختلفة ومتعددة وإصابات بالمرض. وقد يعزى ذلك إلى وجود أجسام مناعية أمية عند التلقيحة الأولى (٦، ٧).

إن أحد أسباب تباين الأجسام المناعية الأمية في حقول الدواجن هو اختلاف برامج التحصينات الوقائية لحقول الأمهات إضافة إلى استيراد بيض التفقيس من مناشيء مختلفة تتبع برامج مختلفة في التحصينات الوقائية. وعدم وجود برنامج موحد لتحصين الأمهات لغرض تكوين أجسام مناعية أمية متجانسة في الأفراخ. وهذا ما دلت عليه هذه الدراسة (الشكل ١).



شكل ١: المستوى المناعي الامي (Maternal Antibodies) لعينات الامصال المفحوصة لمرض الكمبورا باستخدام فحص (ELISA)

يوصي الباحث بما يأتي:

أولا: القيام ببرنامج موحد لتحصين الأمهات (بيض التفقيس) ضد مرض الكمبورا تخص الحقول المحلية في عموم القطر.

ثانيا: في حالة استيراد بيض التفقيس ينبغي أن يكون الأستيراد من مصدر واحد أو من مصادر مختلفة ذات برامج تلقيحات متجانسة أو معروفة من قبل الجهة المستوردة مع تقديم البرامج المتبعة للتحصين ضد مرض الكمبورا.

المصادر

1- المقطري، جميل عباس أحمد (١٩٩٩). أمراض وعلاج التهاب الجراب الخمجي في الدجاج. رسالة دكتوراه فلسفة، كلية الطب البيطري – جامعة بغداد، العراق.

2- الشيخلي، فؤاد إبراهيم عبد الجبار (٢٠٠٣). أمراض الدواجن. الطبعة الثانية.

3- جعفر، نوال صالح (٢٠٠٢). دراسة في تطبيق طريقة التلقيح ضد مرض نيوكاسل وكمبورا في سائل الأمنيون لأجنة بيض الدجاج. رسالة ماجستير–كلية الطب البيطري– جامعة بغداد، العراق.

4- **Bhawna poonia and Shiv Charan (2005). Early and transient induction of nitric oxid (NO) in infection bursal disease virus infection is T. cell dependent: A study in cyclosporine-A treated chicken-model. Indian Jornal of Experimental Biology, pp:192-196.**

5- **Fussel, L. W. (1998). poultry industry strategies for control of immonosupprosive disease. poult. Sci., 77:1193-1196.**

6- **H.WU and Joseph J. Giambrone (2005). Immunizing against infections bursal disease. American Association of Avian pathologists, p.1-2.**

7- **International Journal of poultry science (2002). Effect of maternally derived antibody on vaccination against infectious bursal disease (Gumboro) with live vaccine in broiller. 4:98-101.**

8- **Jeurissen, S. H. M.; E. M. Janse; R. R. Lehrbach; E. E. Haddad; A. Avakian and C. E. Whitfill (1998). The working mechanism of an immune complex vaccine that protects chickens against infections bursal disease. Immuno. 95:499-500.**

9- **J. Giambrone; T. V. Dormitorio and K. TaKeshita,1-Auburn University, AL, 2-Loluman Animal Health, GA. Gainesvill (2003). Monitoring of Breeder flock Immunity Against Infectious Bursal Disease Virus Using Progeny Challenge. The poultry informed professional**

10- **Lordanides, P.; M. Koumpate and E. Artopois (1991).Role of maternal antibodies in preventing IBDin chicks in the first week of life.Deltenonten Kitenaiatrikes Elareias, 42:245-249.**

11- **Mohamad H. Hussain (1979). Studies one biological properties of MUKTESW (R_2B) strain of Newcastle disease virus.**

12- **Mundt, E.; A. A. W. Vanloon and D. goovaerts (1999). An IBDVP5-minusmutant protects chicken from virlent IBDV. In: Immunosuppressive viral disease in poultry. Coudert, F.; Mulder, R. and Vanden Berg, T. Eds. (Europeean Commission) 2001.cost action 839,223-231**

13- **Marquardt W. W.; B. Johnso1; W. F. Odenwald and B. A. Schlotthober (1980). Avian Dis., 24:(2): 375-384.**

14- **Qureshi, M. A. I. and C. L. Heggen (1998). Understanding Immunologg in disease development and control. Pout. Sci. 77:1126-1129.**

15- Sharma, J. M. (1999). Introduction to poultry vaccines and Immunity. Advances in Vet. Med. 41:481-494.

16- Solano, W.; J. J. Giiambrone; J. C. Williams; L. H. Lauerman; V. S. panangala and C. Garces (1985). Effect of maternal antibodies on timing of initial vaccination of young WLH chicken against IBD. v. Av. Dis., 30:648-654.

17- Solano, W.; J. J. Giambrone and V. S. Panangala (1986). comparison of ELISA and VN test for IBDVII. Decay of maternal antibodies in progeny form WLH receiving various vaccination regimens. Av. Dis., 30:126-131.

18- Voller, A.; E. Bidwell and A. Bartlett (1989). The Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Nufield Laboratories of Comparative Med. The Zoological Society of London, Regents park, London, NW1.

LIMITATATION OF MATERNAL ANTIBODIES AGAINST IBD (GOUMBORO) DISEASE IN POULTRY FLOCK COUNTRY BY ELISA TEST

M. H. Hussain M. H. Salman S. A. Abd Al-Wahab

ABSTRACT

the result of this study indicate that there is a great discrepancyp in the level of maternal antibodies against Gumboro disease by using the ELISA test for a (4957) samples, the percentage of sample with high level of immunity (45.001%) while the percentage of the sample with low level of immunity (32.459%) and (21.989%) the percentage of sample with zero level of immunity, this indicate that the different program of vaccination which is followed in parent stock cause this discrepancy in the level of immunity , which transferred from the parent to chicken and play a negative role in the vaccination programs against the disease.

General Co. of Vet. Services - Ministry of Agric. – Baghdad, Iraq.