# دراسة نسجية مرضية للقاح مرض التهاب جراب فابريشيا المعدي في اجنة الدجاج

**عبد الأمير حسين زاهد، بلقيس حسن علي ونوال صالح جعفر**
**كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد**

## الخلاصة

استخدم 150 جنين من أمهات فابرو لحم تجاري أعمارها 18 يوما قسمت إلى ثلاثة مجاميع متساوية، حقنت المجموعة الأولى بلقاح كمبورو (عترة – Lukert) والمجموعة الثانية بلقاحي نيوكاسل وكمبورو المزدوج (عترة – B1 – وعترة – Lukert) وذلك بحقن اللقاح بكيس الامنيوتي، أما المجموعة الثالثة فحقنت بمحلول دارىء الفوسفات المعقم وعدت مجموعة سيطرة. استخدم الفحص النسجي المرضي ومنسب جراب فابريشيا لتقويم مدى تاثير لقاح كمبورو المستخدم. وقد بينت النتائج عدم وجود تغيرات نسجية مرضية أو تحطم وضمور الجراب ومنسب جراب فابريشيا 0.7.

# Histopathological study of IBD vaccine in chick embryos

**A. H. Zahid, B. H. Ali and N. S. Ja´fer**
**College of Veterinary Medicine\ University of Baghdad**

## Abstract

This experiment was conducted by using 150 chick embryos divided to three equal groups (50 embryos each). The first group was inoculated with IBD virus vaccine – IBDV (Lukert strain) and the second group was inoculated with mixed vaccine NDV. And IBDV. All vaccinated groups were inoculated in the amniotic cavity, the third group (control group) was inoculated with sterile phosphate buffered saline. Histopatholoical examination and bursa of fabricius index were used to evaluated the effect of IBDV. Vaccine, the result revealed no pathological changes or damages to bursa, and fabricius index was 0.7.

## المقدمة

ان الخسائر الاقتصادية التي يسببها مرض التهاب جراب فابريشيا المعدي(مرض كمبورو) لاتزال قائمة وشديدة في تربية الدواجن في العراق، على الرغم من اتباع البرامج التلقيحية التقليدية للوقاية من هذا المرض، إذ يعد مرض كمبورو احد الامراض الفايروسية الحادة عالية الوبائية، حيث يصيب الأفراخ الصغيرة بعمر (3 – 6) أسابيع (1)، ويسبب نسبة هلاكات عالية حيث تصل الى اكثر من (23%) في الافراخ المصابة (2). وان اهم مايسببه فايروس مرض كمبورو هو حصول حالة الكبت المناعي وبدرجات متفاوته حيث تحصل هذه الحالة عند اصابة الافراخ باعمار مبكرة حيث ينتج عنها حالة حادة وطويلة الامد من الكبت المناعي (3)، والتي تؤدي إلى تعرض الافراخ لخطرالاصابة بالامراض المختلفة وتثبيط الاستجابة المناعية للقاحات المختلفة (4، 5) وللسيطرة على هذا المرض اعتمدت عدة طرائق للتلقيح استخدمت فيها اللقاحات الحية واللقاحات الزيتية المبطلة لتمنيع الامهات واكتساب الافراخ مستوى عالي من الاضداد الامومية (6) الا ان عدم ضمان تجانس مستوى اضداد الامومية لافراخ القطيع كافة مما دعا الى اجراء التلقيح المبكر بعد الفقس في بعض القطعان (7). لكن البحوث والدراسات التي اجريت لامكانية تمنيع الافراخ ضد مرض كمبورو بواسطة تلقيح الاجنة قد اخذت حيزا كبيرا من

بين طرائق التلقيح المتبعة حاليا في العالم لما لها من فوائد تشمل: مقاومة مبكرة للجنين وحقن جرعة محددة من اللقاح لكل بيضة وتقليل الكلفة والجهد مع قلة التلوث (8). ونظرا لما حققته هذه البحوث والدراسات من نجاح هذه الطريقة على الامراض الفايروسية المهمة فقد تم اجراء هذه التجربة لاثبات مدى احتمالية استجابة الافراخ للقاح مرض كمبورو منفردا ومزدوجا مع لقاح نيوكاسل وذلك باستخدام تقنية تلقيح الاجنة معتمدة على حقن اللقاح مرة واحدة بعمر (18) يوما من مدة الحضن من خلال دراسة تاثير اللقاح نسيجيا على جراب فابريشيا لمعرفة كون اللقاح المعطى بهذه الطريقة امن ويعطي استجابة مناعية للنسيج اللمفاوي الجريبي بدون ان يسبب تغيرات مرضية شديدة في الجراب اذا اعطي بصورة مفردة أو مزدوجا مع اللقاح نيوكاسل.

## المواد وطرائق العمل

تم استخدم 150 بيضة تفقيس تجارية من أمهات دجاج لحم فابرو وحضنت بحاضنة خاصة نوع Petersim® بلجيكية الصنع، حتى حين التفقيس، بعمر 18 يوما من مدة الحضن تم تقسيمها إلى ثلاثة مجاميع وحقنت بعمر 18 يوما حسب طريقة (9)، المجموعة الأولى حقنت بلقاح كمبورو– عترة Lukert مجهزة من د. غنيمة صادق محمد جواد على شكل سائل في عبوة زجاجية تحوي على500 جرعة/1مل والمعاير بجرعة ($10^3$ TCID50) الجرعة الخامجة 50% من خلايا الزرع النسيجي، أما المجموعة الثانية لقحت بلقاح نيوكاسل– عترة B1 المجهزة من شركة الكندي مجفد (Lyphoilized) في عبوة زجاجية تحوي (2000) جرعة وأيضا حقنت بلقاح كمبورو– عترة Lukert المجهز من قبل د. غنيمة اما المجموعة الثالة حقنت بمحلول دارىء الفوسفات المعقم وعدت مجموعة سيطرة. تم تربية الافراخ بعد الفقس في وحدة تربية الدواجن في كلية الطب البيطري مع تهيئة المستلزمات التربية كافة. استخدم الفحص النسجي ومنسب جراب فابريشيا لتقويم مستوى الاستجابة المناعية وتأثيرها حيث تم إجراء الفحص النسجي لجراب فابريشيا في (1، 7، 14، 21) يوما من عمر الطير وحسب طريقة (10)، أما منسب جراب فابريشيا فقد اجري بعمر (21) يوما للمجاميع الملقحة كمبورو، ونيوكاسل وكمبورو حيث تم حساب دليل وزن جراب فابريشيا: وزن الجسم وحسب طريقة (6). وتطبيق المعادلة الآتية حسب طريقة (11).

$$\text{B:B index} = \frac{\text{B: B ratio of vaccinated chicks}}{\text{Mean B:B ratio of control group}}$$

وحينما يكون ناتج المعادلة اقل من (0.7) يعد جراب فابريشيا ضامرا.

## النتائج

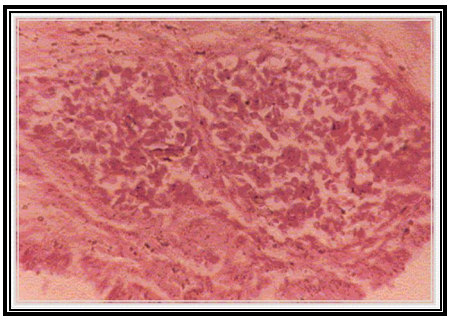
بينت نتائج منسب جراب فابريشيا عدم تسجيل أي حالة ضمور للجراب في المجموعة الاولى (الملقحة كمبورو) وذلك حسب معادلة منسب جراب فابريشيا المذكورة انفا اذ يكون الجراب ضامرا حينما يكون ناتج المعادلة اقل من (0.7) وهذا ما لاحضناه في عينتين من المجموعة الثانية (الملقحة نيوكاسل وكمبورو) اذ سجلت مقدارا اقل من (0.7). الا ان معدل منسب جراب فابريشيا للمجموعتين لم يسجل مقدار اقل من (0.7). وكما هو موضح في جدول (1). اما نتائج الفحص النسجي فقد اشارت الى تاثر جراب فابريشيا في المجموعتين الاولى (الملقحة كمبورو) والثانية (الملقحة نيوكاسل وكمبورو) بالتغيرات المستخدمة نتيجة تلقيح الاجنة بعمر (18) يوما وتفاوت درجة التغيرات النسجية بمرور الايام مقارنة مع المقاطع النسجية لجراب فابريشيا في مجموعة السيطرة. اذ نلاحظ في اليوم الاول من عمر الطير المعالم الطبيعية لنسيج جراب فابريشيا في مجموعة السيطرة (صورة 1) في حين اظهر نسيج جراب فابريشيا للمجموعة الاولى زيادة اعداد خلايا الليمفوسايت باعداد كبيرة في جراب فابريشيا (صورة 2) وكذلك الحال بالنسبة لنسيج جراب فابريشيا للمجموعة الثانية اظهر فرط تنسج لمفاوي ولكن اقل عما هو عليه في المجموعة الأولى (صورة 3)، أما في اليوم السابع لوحظ النسيج اللمفاوي الطبيعي لجراب فابريشيا في مجموعة السيطرة في حين اظهرت المقاطع النسجية لجراب فابريشيا للمجموعة الاولى ارتشاح خلايا المتغايرات بين الجريبات وهذه التغيرات مشابه لما هو عليه في المجموعة الثانية. وفي عمر (14) يوم لوحظ نفاد طفيف للخلايا اللمفاوية في جراب فابريشيا في المجموعتين الملقحتين الاولى والثانية مقارنة مع النسيج اللمفاوي لجراب

فابريشيا في مجموعة السيطرة. اما في يوم (21) يوم فلم تظهر المقاطع النسجية لجراب فابريشيا اختلافات نسجية مرضية بين مجموعة السيطرة والمجموعتين الملقحتين التي لم تبين أي افات نسجية واضحة بعد (21) يوما من التلقيح وهذا يتفق مع المظهر الخارجي الطبيعي لجراب فابريشيا (صورة 4، 5، 6).

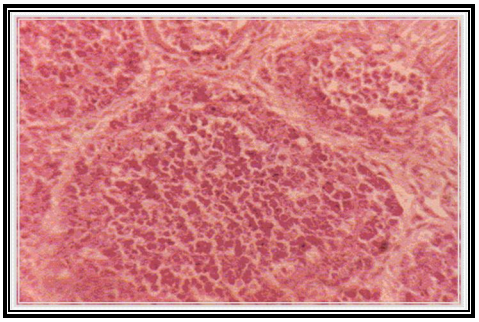
**جدول (1) نتائج منسب جراب فابريشيا لخمس عينات بعمر (21) يوما**

| عدد العينات / المجاميع | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | *المعدل |
|---|---|---|---|---|---|---|
| المجوعة الأولى (كمبورو) | 0.9 | 0.7 | 0.8 | 1.3 | 0.9 | 0.92 |
| المجموعة الثانية (نيوكاسل وكمبورو) | 0.5 | 1.1 | 0.8 | 0.5 | 0.7 | 0.72 |

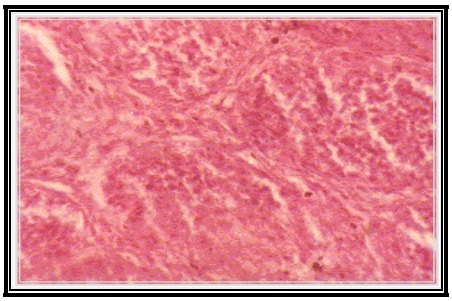
* المقدار الأقل من (0.7) يعد فيه الجراب ضامرا.



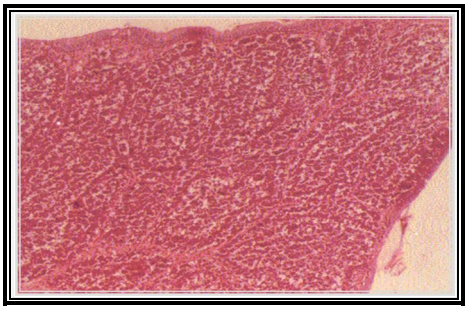
**صورة (1) مقطع نسجي في جراب فابريشيا لأحد أفراخ مجموعة السيطرة بعمر يوم واحد تلاحظ فيه الجريبات اللمفاوية الطبيعية (الصبغة H & E × 40)**



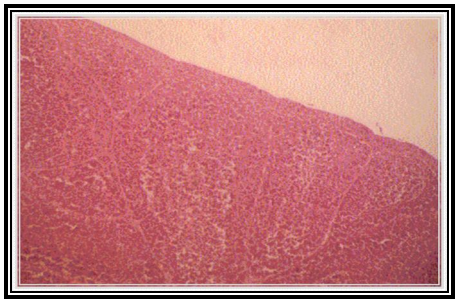
**صورة (2) مقطع نسجي في جراب فابريشيا لأحد أفراخ المجموعة الأولى بعمر يوم واحد تلاحظ فيه زيادة أعداد خلايا الليمفوسايت (الصبغة H & E × 40)**



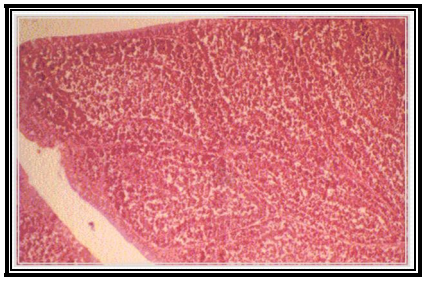
**الصورة (3) مقطع نسجي في جراب فابريشيا لأحد أفراخ المجموعة الثانية بعمر يوم واحد تلاحظ فيه فرط تنسج فعال اقل من المجموعة الأولى (الصبغة H & E × 40)**



**الصورة رقم (4) مقطع نسجي في جراب فابريشيا لأحد أفراخ المجموعة السيطرة بعمر (21) يوما تلاحظ المعالم الطبيعية للنسيج (الصبغة H & E × 10)**



**الصورة (5) مقطع نسجي في جراب فابريشيا لأحد أفراخ المجموعة الأولى بعمر (21) يوما تلاحظ المظهر الطبيعي للنسيج (الصبغة H & E × 10)**



**الصورة (6) مقطع نسجي في جراب فابريشيا لأحد أفراخ المجموعة الثانية بعمر (21) يوما تلاحظ المظهر الطبيعي للنسيج (الصبغة H & E × 10)**

## المناقشة

هدفت هذه التجربة إلى معرفة تأثير لقاح كمبورو الحي (عترة – Lukert) منفردا ومزدوجا مع لقاح نيوكاسل الحي (عترة – B1) حين حقنها لاجنة دجاج لحم بعمر (18) يوما. وقد اعتمدت التجربة استخدام لقاح كمبورو – عترة Lukert لأول مرة في تمنيع أجنة دجاج على أساس أنها عترة لقاحية مضعفة في خلايا الزرع النسجي ولا تسبب الكبت المناعي لأنها لا تسبب أذى للجراب (11)، وعدت هذه العترة من العتر الخفيفة إلى متوسط الضراوة (12)، حيث تعتبر الفايروسات اللقاحية متوسطة الضراوة لمرض كمبورو غير ممرضة لأجنة حاملة أضداد اموية (7)، وكذلك استخدام لقاح نيوكاسل – عترة B1 في هذه التجربة في تلقيح أجنة لحم حامل الأضداد الاموية وفقا لما أشير في استخدام لقاح كمبورو لتلقيح أجنة دجاج لحم حامل أضداد اموية (7 – 13) وذلك كون استخدام عترة – B1 في أجنة دجاج خالية من المسببات المرضية (SPF) لم تكن ملائمة لحقن هذه الأجنة إذ عدت مميتة أو مضعفة للأجنة الفاقسة (14). كما ان استخدام اللقاحين الفايروسين معا (لقاح نيوكاسل ولقاح كمبورو) في تمنيع اجنة الدجاج بعمر (18) يوما لمعرفة مدى الاستجابة المناعية المتولدة لكل منهما خصوصا ان استخداماللقاح المزدوج بين الفايروسات اللقاحية في تمنيع اجنة الدجاج قد عرف بنجاح من العديد من الباحثين (15 – 16) حيث استخدم حقن اللقاحين الفايروسين لمرضي ميرك وكمبورو بوقت واحد لاجنة دجاج بعمر (18) يوما اعطت حماية جيدة ضد المرضين (7). واستخدم ايضا المزج بين الفايروسين اللقاحين لمرضي ميرك والتهاب القصبات المعدي (17)، وكذلك استخدام المزج بين اربعة فايروسات لقاحية للامراض ميرك, كمبورو والجدري الحامل لجينات فايروس نيوكاسل وقد اعطت حماية ضد الفايروسات الضارية لهذه الامراض (18). وبناءا على ذلك فقد تم استخدام منسب جراب فابريشيا في احيان كثيرة كمقياس لضراوة الفايروس اللقاحي المستخدم وذلك من خلال الصلة بين وزن الجراب وضراوة الفايروس (19) حيث اوضحت نتائج منسب جراب فابريشيا عدم تاثير المجموعة الاولى (الملقحة بلقاح كمبورو) وذلك من خلال عدم تسجيل أي حالة ضمور لجراب الافراخ الملقحة كمبورو. اما المجموعة الثانية (الملقحة نيوكاسل وكمبورو) فقد سجلت حالتي ضمور في الجراب وهذا يعزى الى وجود اختلافات فردية في تعامل الطير مع الفايروس اللقاحي (20) ومع ذلك فان معدل منسب جراب فابريشيا للمجموعتين هو ضمن المدى الموصى به لوصف اللقاح امن حيث يعد اللقاح غير امن في حالة اذا كان معدل منسب جراب فابريشيا للافراخ الملقحة اقل من (0.7) (11). وهذا يتفق مع العديد من الدراسات التي اكدت ان اللقاحات المضعفة والمتوسطة الضراوة للقاح كمبورو لم تؤثر على معدل منسب جراب فابريشيا ولم تسبب أي ضمور في حجم جراب فابريشيا بالنسبة للافراخ الملقحة وبشكل معنوي (21، 22، 23) وان اللقاح يجب ان لا يسبب سوى انخفاض بسيط ومؤقت في منسب جراب فابريشيا (10)، وهذا ما أكدته الفحوصات النسجية لجراب فابريشيا اذ سبب اللقاح تحفيزا للنسيج اللمفاوي الجريبي ناتج من تكاثر الفايروس اللقاحي في جراب فابريشيا دون التسبب بتغيرات مرضية شديدة في الجراب وهذا ما أكده (23، 24) بالإضافة إلى ان اللقاح لم يسبب سوى نفاذ جزئي ووقتي للخلايا اللمفاوية في الجراب وهذا ما اشار اليه العديد من البحوث (15، 21، 23).

## المصادر


1. Kibenge, F. S. B.; Dhillon, A. S. & Russell, R. G. (1988). Growth of serotypes I and II variant strains of infectious bursal disease virus in vetro cells. Avian Dis., 32:298 – 303.
2. Anjum, A. D.; Sabri, G. S. & Jamshidi, K. (1994). Occurrence spread and control of infectious bursal disease in pakistan. International Poult. Con.. PP. 57-59.
3. Van den Berg, T. P. (2000). Acute infectious bursal disease in poultry: A review. Avian Pathol., 29:175-149.
4. Sharma, J. M.; Kim, I. J.; Rautenschlein, S. & Yeh, H. Y. (2000). Infectious bursal disease virus of chicken pathogenesis and immunosuppression. Devl. Comp. Immunol., 24:223-235.
5. Ali, A. S.; Abdalla, M. O. & Mohammed, M. E. H. (2004). Interaction between Newcastle disease and infectious bursal disease vaccines commonly used in Sudan. International J. of Poult. Sci., 3(4): 300-304.

6. Lucio, B. & Hitchner, S. B. (1979). infectious bursal disease emulsified vaccine: effect upon neutralizing-antibody levels in the dam and subsequent protection of the progeny. Avian Dis., 23:466-478.
7. Sharma, J. M. (1985). Embryo vaccination with infectious bursal disease virus alone or in combination with Marek´s disease vaccine. Avian Dis., 24:1155-1169.
8. زاهد، عبد الأمير والشمري، صبيحة عبد علي. (2009). تلقيح أجنة الدجاج ضد مرض نيوكاسل باستخدام اللقاح المبطل الزيتي المحضر محليا في العراق. وقائع المؤتمر التاسع/كلية الطب البيطري/جامعة بغداد/العدد الأول.
9. Sharma, J. M. & Burmester, B. R. (1982). Resistance to Marek´s disease at hatching in chickens vaccinated as embryos with the turkey herpes virus, Avian Dis., 26: 134-149.
10. Thoroton, D. H. & Pattison, M. (1975). Comparison of vaccines against infectious bursal disease. J. Comp. Path., 85: 597-610.
11. Palya, V. (1991). Manual for the production of Marek´s disease Gumboro disease and inactivated Newcastle disease vaccine. Animal protection and Health paper 89. food and agriculture Organization, Rome. PP. 29-60.
12. Lasher, H. N. & Shane, S. M. (1994). Infectious bursal disease. world´s Poult. Sci. J., 50: 133-166.
13. Johnston, P. A.; Liu, H.; Oconnell, T.; Phelps, P.; Bland, M.; Tyczkowski, J.; Kemper, A.; Harding, T.; Avakian, A.; Haddad, E.; Whitfill, C.; Gilidersleeve, R. & Ricks, C. A. (1994). Application in *In vivo* technology. Poult. Sci.,76:165-178.
14. زاهد، عبد الأمير؛ جعفر، نوال صالح والبنا، أنطوان صبري. (2005). تطبيق طريقة التلقيح في أجنة الدجاج باستخدام لقاح النيوكاسل وكمبورو ونيوكاسل المزدوج. المجلة الطبية. المجلد (29). العدد(2).
15. Ahmad, J. & Sharma, J. M. (1992). Evaluation of a modified-live virus vaccine a administered *In vivo* to protected chicken against Newcastle disease. Am. J. Vet. Res., 53: 1999-2004.
16. الشمري، فاتح عودة كاظم. (2010). دراسة مقارنة لاستخدام اللقاح الزيتي المبطل لمرضي النيوكاسل وأنفلونزا الطيور بطريقة تلقيح الأجنة والأفراخ الفاقسة. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري–جامعة بغداد.
17. Wakenel, P. S. & Sharma, J. M. (1986). Chicken embryonal vaccination with avian infectious bronchitis virus. Am. J. Vet. Res., 47: 933-938.
18. Gagic, M.; Hill, C. A. & Sharma, J. M. (1999). In vivo vaccination of specific-pathogen-free chicken with vaccines containing multiple agents. Avian. Dis., 43: 293-301.
19. حسن، صلاح مهدي. (1986). تقييم بعض اللقاحات التجارية لالتهاب جراب فابريشيا المعدي (مرض كمبورو) في الأفراخ. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري–جامعة بغداد.
20. Mazariegos, L. A., Lukert, P. D. & Brown, J. (1990). Pathogenicity and immunosuppressive properties of infectious bursal disease "intermediate" strain. Avian. Dis., 34: 203-208.
21. Kulikova, L.; Jurajda, V. & Juranova, R. (2004). Effects of infectious bursal disease vaccinations strains on the immune system of leghorn chickens. Acta. Vet. Brno., 73: 205-209.
22. Sahar, M. O.; Ali, A. S. & Rahman, M. E. A. (2004). Residual pathogenic effects of infectious bursal disease vaccine containing intermediate and hot strains of the virus in broiler chickens international. J. of Poult. Sci., 3(6): 415-418.
23. الهاشمي، بلقيس حسن علي. (2007). دراسة مقارنة للتغيرات النسيجية المرضية والمناعية المصاحبة لإعطاء خمسة أنواع من لقاحات مرض كمبورو. أطروحة دكتوراه، كلية الطب البيطري–جامعة بغداد.
24. Awaad, D. & Schwarzer, K. (2005). Modulating the immunosuppressive effect. Int. Poult. Prod., 13 (1): 20-25.
25. Schroder, A.; Vanloon, A. A. W.; Goovaerts, D.; Teifke, J. P. & Mundt, E. (2001). VP5 and the N terminus of VP2 are not responsible for the different pathotype of serotype I and II infectious bursal disease virus. J. of General. Virol., 82: 159-169.