الفصل الثاني والثلاثون

التهاب المفصل الفيروسي/التهاب غمد الأوتار وإصابات فيروس ريو الأخرى

VIRAL ARTHRITIS/TENOSYNOVITIS AND OTHER REOVIRUS INFECTIONS

جون ك. روزينبيرغ، ونورمان أ. أولسون، ولويس فان دير هيد
John K. Rosenberg, Norman O. Olson, and Louis van der Heide

الملخص Summary

تصيب فيروسات عائلة ريوفيريدى *Reoviridae* جنس فيروس أورثوريو *Orthoreovirus* تصيب مختلف أنواع الطيور شاملة الدواجن. التهاب المفصل الفيروسي في الدواجن هو أكثر الظواهر المرضية لعدوى فيروس ريو للطيور. ارتبطت متلازمة عدم الامتصاص malabsorption syndrome في الدجاج التي تشمل التقزم والإسهال وهشاشة العظام وتكسير النهاية العليا لعظمة الفخذ أيضاً بإصابة فيروس ريو، إلا أنه تشترك عدة عوامل مسببة مختلفة في متلازمة عدم الامتصاص. تشترك ظروف مرضية أخرى مع إصابات فيروس ريو وتشمل التهاب الكبد والتهاب عضلة القلب والتامور المائي وإصابات الجهاز التنفسي والمعوي. العديد من إصابات فيروس ريو تحت إكلينيكية.

التهاب المفصل الفيروسي Viral Arthritis/Tenosynovitis

تعريف المسبب Agent Identification

يعتمد التشخيص الافتراضي على الآفات شاملة التضخم المزدوج لقصبة الرجل وحزم الأوتار فوق مفصل الركبة في الدجاج والآفات في أجنة الدجاج المحقونة عند ٥ – ٧ أيام في كيس المح أو التأثير المرضي الخلوي وتكوين المدمج الخلوي في مزارع خلية كلى الدجاج. تأكيد فيروس الريو يكون من خلال إظهار الأنتيجينات النوعية في الأجنة أو سوائل المفصل أو مزارع الخلية بواسطة اختبارات الترسيب أو الانتشار المناعي أو التألق المناعي.

الكشف المصلي في العائل Serologic Detection in the Host

يمكن أن تستخدم اختبارات الإليزا وتعادل الفيروس والانتشار المناعي في الآجار لدعم الإصابات السابقة، إلا أنه بسبب أن إصابات فيروس الريو يمكن أن تكون تحت إكلينيكية ومنتشرة فإن تاريخ القطيع والمعلومات الأخرى يجب أن تقيم قبل الحكم على نتائج الفحص المصلي.

المتلازمات الأخرى Other Syndromes

تعريف المسبب Agent Identification

أفضل ما يكون التشخيص بواسطة عزل الفيروس في الأجنة أو مزارع الخلية مع التأكيد بواسطة كشف الأنتيجينات النوعية لفيروس ريو. العدوى التجريبية لمتلازمة حقلية قد يكون ضرورياً لتحديد ما إذا كان فيروس ريو هو المسبب.

الكشف المصلي في العائل Serologic Detection in the Host

يمكن أن تستخدم إختبارات إليزا وتعادل الفيروس والانتشار المناعي في الآجار لتدعيم الإصابات السابقة، إلا أنه بسبب أن إصابات فيروس ريو يمكن أن تكون تحت إكلينيكية وواسعة الانتشار فإن تاريخ القطيع والمعلومات الأخرى يجب أن تقيم قبل الحكم على نتائج الفحص المصلي.

المقدمة Introduction

تنتشر فيروسات ريو الطيور في الدجاج والرومي وأنواع الطيور الأخرى (12, 14, 15, 16, 18, 23). عزلت فيروسات ريو الطيور من الدجاج المصاب بأحوال مرضية متنوعة تشمل التهاب المفصل الفيروسي (4, 8, 9, 12, 14, 19)، ومتلازمة التقزم (13)، والمرض التنفسي (2, 5, 11, 15)، والمرض المعوي (1, 5)، ومتلازمة عدم الامتصاص (10, 13)، وهشاشة العظام (20)، بالإضافة أنها توجد بصورة متكررة في الدجاج غير المصاب إكلينيكياً. شدة وطبيعة المرض مثل التهاب المفصل الفيروسي التي تحدث عقب إصابة فيروس ريو تعتمد على عمر العائل وضراوة الفيروس وطريقة التعرض.

المرض الإكلينيكي Clinical Disease

التهاب المفصل الفيروسي Viral Arthritis/Tenosynovitis

أكثر الأمراض انتشاراً المصاحب لفيروس ريو الطيور هي التهاب المفصل الفيروسي والتهاب غمد الوتر. تشمل الأعراض الرئيسية في بداري اللاحم التي عمرها ٤ – ٧ أسابيع هو التضخم في القصبة في الناحيتين والأوتار

فوق مفصل القدم مسبباً حركة محدودة للأوتار وعرجاً وأحياناً تمزقاً في وتر عضلة السمانة. قد يشاهد التهاب الكبد وعضلة القلب والطحال في صيصان عمر ١ – ٧ أيام.

مجهرياً، تحدث الزيادة في حجم وعدد خلايا غشاء المفصل (21). الخلايا المبطنة لغشاء المفصل ترشحت بالخلايا الليمفاوية وخلايا البلازما. الأضرار في القلب تتكون من ترشيحات بين ألياف القلب المصحوبة بمساحة بؤرية من الخلايا المشوهة. يحدث غالباً تراكم الخلايا الليمفاوية في الأوعية الدموية.

متلازمة عدم الامتصاص Malabsorption Syndrome

تصاحب إصابات فيروس الريو متلازمة عدم الامتصاص، لكن سببها المحدد يظل غير واضح، وترجع الأعراض المرضية في الدجاج عند ١ – ٣ أسابيع إلى عدم الامتصاص وتشمل ضعف تكوين الصبغة وترييشاً غير طبيعي وهشاشة العظام ونمواً غير متساوٍ وغذاء غير مهضوم في الزرق وزيادة النفوق (10, 13, 22). قد تشمل الآفات تضخم المعدة الغدية والتهاباً معوياً وعرجاً مصحوباً مع التهاب أغماد الأوتار. لوحظت آفات نسيجية تشمل التهاب المعدة الغدية وعضلة القلب وضموراً في بيرسا فابريسي والتهاب البنكرياس والتهاباً معوياً وضمور الخملات المعوية (10, 13). وصف أيضاً وجود تجويف في قرص نمو العظام الفخذي مع نخر في الغضروف وتكسر في رأس عظمة الفخذ (10).

جمع العينات Sample Collection

يجب جمع سوائل المفصل من مفاصل القدم والركبة بواسطة مسحات معقمة أو مستخلص ١٠٪ من أغماد الأوتار في شوربة مغذية أو وسط مزرعة الخلية. يمكن أن يؤخذ أيضاً مسحات أو متجانس نسيج من الطحال أو المجمع أو القصبة الهوائية. المراحل الهضمية والتنفسية لإصابات فيروس ريو قصيرة الفترة وتجعل عزل الفيروس من تلك الأنسجة صعباً. يمكن حفظ العينات عند —٢٠°م حتى تستخدم.

أوساط الزرع المفضلة Preferred Culture Media and Substrates

يمكن أن يزرع الفيروس في كيس المح أو على الغشاء الكوريوني السقائي لأجنة بيض الدجاج أو في خلايا كلى الدجاج (16). لم تُجرَ مقارنة بين الطريقتين، لكن يفضل العزل الأصلي في كيس المح.

حقن الجنين Embryo Inoculation

يجب أن يحصل على البيض من قطيع خالي من فيروس ريو، سلبي للأجسام المضادة. الطريقة المفضلة هي حقن كيس المح في أجنة بيض الدجاج عند عمر ٥ – ٧ أيام، يحقن ٠,١ – ٠,٢ مل من المواد المشتبهة لكل بيضة.

طريق الكيس السقائي للحقن عادة غير مناسب. يمكن أن يستخدم الغشاء الكوريوالإنتويس السقائي لإظهار الآفات شبيهة البقع والاحتوائيات السيتوبلازمية. يقتل حقن كيس المح الجنين في ٣ – ٥ أيام ويكون الجنين نزفي بشكل واضح أو يتغير لونه إلى الأحمر القرمزي. تكون الأعضاء الداخلية محتقنة ونزفية. تكون الأجنة التي تعيش حتى عمر ١٧ – ٢١ يوماً متقزمة بصورة خفيفة والكبد والطحال والقلب يكون متضخماً ويحتوي على بؤر نخرية.

الحقن على الغشاء الكوريوني السقائي لأجنة البيض عمر ١٠ يوم يقتل الأجنة في ٣ – ٥ أيام وقد تتطور شبيهات البقع على الغشاء الكوريوني. يمكن رؤية الأجسام الاحتوائية في طبقة الميزوديرم استخدام صبغة هيماتوكسلين وإيوسين أو تقنية التألق المناعي.

مزرعة الخلية Cell Culture

تفضل مزرعة خلايا كلى الدجاج من صوص عمر ٢ – ٦ أسابيع على الخلايا الليفية لأجنة الدجاج لزراعة فيروسات ريو الدجاج. البيئة المناسبة هي ميم MEM أو إيجل Eagle مع محلول ملح إيرلي وجلوتامين، و١٠٪ مصل أجنة العجول وبيكربونات صوديوم (١,٥ جم/ل)، وللحفظ ٣٪ مصل عجول وبيكربونات صوديوم بمصل ١,٥ جم/ل. المضادات الحيوية المستخدمة لكل لتر من الوسط المستخدم هي ١٠٠٠٠٠ وحدة من البنسللين، و٠,١ جرام داي هيدروستربتوميسين، و٢,٥ مجم من أمفوتريسين B. يفضل استخدام حضان رطب مع ثاني أكسيد الكربون (٥٪). يتكون عقب الحقن مدمج خلوي عادة مبكراً بعد ٢٤ – ٤٨ ساعة. يطفو المدمج الخلوي حراً تاركاً ثقوب في طبقة الخلايا الواحدة. تتحد المدمجات الخلوية بالغشاء مظهرة كتلة من الخلايا الميتة مع مساحة واضحة تشبهة الهالة. كلما أصبح الفيروس متأقلماً لمزرعة الخلية، وقد يدمر غشاء الخلية الكامل في ٢٤ ساعة.

تعريف المسبب Agent Identification

المورفولوجي والخواص الفيزيوكيميائية
Morphology and Physicochemical Properties

فيروسات ريو هي فيروسات آر إن إيه مزدوجة الشريط في عائلة ريو (3). لا يثبط تكاثر الفيروس في وجود مثبطات الأيض للحمض دي إن إيه، وأكتينوميسين D بمعدل ٠,٥ ميكروجرام/مل، وسيتوزين أرابينوسايد بمعدل ١٠٠ ميكروجرام/مل أو ٥-فلورو-٢ ديوكسي يوريدين بمعدل ٣٠٠ ميكروجرام/مل في مزرعة كلى أجنة الدجاج الابتدائية (21). الفيروس ثابت حرارياً ويقاوم الإيثير والكلوروفورم وبي إتش ٣ (12). تركيبياً يكون الكابسيد أشعة بلورية في سيتوبلازم الخلايا المصابة (21). يتكون الكابسيد يتكون من ٩٢ كابسوميراً.

تعريف الفيروس Virus Identification

يمكن استخدام اختبار التألق المناعي المباشر أو غير المباشر ضد أنتيجين المجموعة النوعي لتعريف المسبب. يمكن أيضاً استخدام اختبارات الترسيب في الآجار وتعادل الفيروس للتعرف على الفيروس. اختبار التألق المناعي أكثر قدرة في كشف الأنتيجين في النسيج المصاب خاصة سيتوبلازم الخلايا المصابة، الزليل ومزرعة الخلية (14, 5).

تباين عترة الفيروس Virus Strain Variability

في اليابان، تم وصف خمسة أنواع مصلية من فيروسات ريو الطيور عزلت من الزرق ومسحات المجمع والقصبة الهوائية. لم تتحدد ضراوتها للأنسجة الزليلية والأوتار (5). في الولايات المتحدة تم التعرف على أربعة أنواع مصلية (15). المعزولات من الأنسجة الزليلية ظهرت أنها أنماط من نوع مصلي مفرد (16) ومحتمل أنها تشبه المعزولات الأخرى (4 ,8). بالرغم من ضرورة دراسة إمراضية فيروسات ريو الطيور أكثر، إلا أن كل المعزولات قادرة على إحداث التهاب المفصل أو التهاب الأغماد والأوتار عند الحقن في وسادة القدم في دجاج عمر أسبوعين. يمكن تفريق فيروسات ريو الطيور من الأنواع البشرية ١ و ٢ و ٣ بواسطة قدرة فيروسات ريو الطيور أن تلزن كرات الدم للإنسان النوع O وعدم مقدرة الأنواع البشرية أن تنمو في كيس المح لأجنة الدجاج. بالإضافة إلى ذلك يمكن استخدام اختبارات الترسيب في الآجار وتعادل الفيروس للتعرف على فيروسات ريو الطيور. فروق العترة المبنية على الإمراضية النسبية يمكن أن توضح مع معزولات فيروس ريو المتماثلة أو المتشابهة أنتيجينياً (13).

الكشف المصلي في العائل Serologic Detection in the Host

يمكن أن يستخدم اختبار الانتشار المناعي في الآجار لتوثيق الإصابات السابقة. يجهز الأنتيجين من الأغشية الكوريونية السقائية من الأجنة النافقة نتيجة الحقن عند ٥ — ٧ أيام بطريق كيس المح. يجهز آجار نوبل (١٪) في محلول ملح فوسفات ٠.٠١ مول عند بي إتش ٧,٢ محتوياً على ٨٪ ملح و٧,٥٪ جلايسين. الجلايسين ليس ضرورياً لكن قد يعطي تفاعلاً أكثر تميزاً. يجب أن توضع عينات المصل الإيجابي المعلوم في الحفر ١ و ٤، ومن ثم يمكن تمييز خط التماثل مع الأمصال المجهولة (14). كل فيروسات ريو (الأنواع المصلية) المعروفة تشترك في أنتيجين الترسيب النوعي للمجموعة العام. تميل الأجسام المضادة المرسبة إلى أن تبقى في الطيور التي بها إصابات مفاصل لكن قد تختفي في أربعة أسابيع في طيور عديدة، وبالتالي الاختبار الشهري يكون مرغوباً في المسح المصلي للإصابة.

أفضل ما يجرى اختبار التعادل باستخدام اختبار تناقص البقع في مزرعة خلايا كلى أجنة الدجاج. قد تستخدم تخفيفات ثنائية لمصل الدجاج. يخلط كمية متساوية من الفيروس المحتوي على ١٠٠ وحدة مكونة للبقع مع تخفيفات المصل وتحضن عند ٣٧° م لمدة ٤٥ دقيقة. يحقن كمية ٠.٢ مل في مزرعة الخلية في أطباق بترى مقاس

٦٠ x ١٥ وتترك للامتزاز لمدة ساعة مع الهز المتكرر. تشفط السوائل الزائدة وتغطى الخلايا بالوسط (٥ مل) المتكون كما وصف سابقاً ويحضن لمدة ٥ – ٧ أيام وتغطى بكمية ٢ مل من ٠,٠٠١٪ أحمر متعادل. تعد البقع في ٤ – ٨ ساعات. معيار المصل هو مقلوب أعلى تخفيف للمصل الذى يوقف ٩٠٪ من البقع. معيار المصل ٤٠ أو أكثر يعتبر معنوياً. أُستخدمت طريقة منع البقع على الغشاء الكوريوني السقائي لكن النتائج صعبة التقييم.

التفريق من العوامل الممرضة المشابهة Differentiation from Closely Related Agents

التهاب المفصل/التهاب غمد الأوتار Arthritis/Tenosynovitis

يجب أن تفرق هذه الإصابة من الإصابة بالميكوبلازما سينوفي والتهاب المفصل البكتيري والعرج الناتج من التشوهات التشريحية. يمكن أن يشخص التهاب المفصل إكلينيكياً ويجب أن يؤكد التشخيص بالعزل والتعرف على الفيروس. قد يتطلب حزم الأوتار المصابة الفحص المجهري لإظهار الآفات (6). يؤثر التهاب المفاصل البكتيري على المفصل بصورة متكررة، لكن الإصابة المزدوجة غير معتادة، مما يجعل التعرف على المسببات الأولية صعباً.

الإصابة المرضية بالمكور العنقودي الذهبي شائعة في المفاصل المصابة، والأقل تكراراً هي إصابات السالمونيلا والباستيريللا والذائبة الاحمرارية. يجب محاولة الزرع والتعرف على أنواع الميكوبلازما المختلفة المسؤولة بصورة متكررة عن التهاب المفصل.

مرض مارك والإصابات غير المعدية مثل لين العظام وتآكل الفقرات وتآكل الغضروف والتسممات يجب أن تستبعد أيضاً كسبب للعرج.

متلازمة عدم الامتصاص Malabsorption Syndrome

قد تحدث التهاب المعدة الغدية وتأخر النمو وتكوين الريش غير الطبيعي بسبب عوامل أخرى مثل فيروس ريتيكلوإندوثيليوسيس (22) والسموم الفطرية (17). اتهم فيروس بارفو (7) وفيروس كاليسي (24) كمسبب محتمل لمتلازمة مشابهة لمتلازمة عدم الامتصاص.

آفات الجنين والتأثير الخلوي المرضي في مزرعة الخلية

Embryo Lesions and Cytopathic Effects in Cell Culture

تسبب العديد من الفيروسات نفوق في أجنة الدجاج التي تفرق من النفوق المسبب بفيروس ريو فقط بصعوبة. تسبب فيروسات الجدري والتهاب الحنجرة والقصبة المعدي بقعاً على الغشاء الكوريوني السقائي والذي قد يشبه تلك المسببة بفيروسات ريو. قد تسبب أيضاً فيروسات الجدري وأدينو وهيربس تأثيراً مرضياً خلوياً وأجساماً احتوائية مثل فيروسات ريو في مزرعة الخلية. قد تكون الاختبارات الفيزيوكيميائية و/أو المصلية مطلوبة لتأكيد عترة فيروس ريو.

References المراجع

1. Deshmukh, D. R., and B. S. Pomeroy. Avian reoviruses. III. Infectivity and egg transmission. Avian Dis. 13:427-439. 1969.
2. Fahey, J. E., and J. F. Crawley. Studies on chronic respiratory diseases of chickens. 2. Isolation of a virus. Can. J. Comp. Med. 18:13-21. 1954.
3. Jackson, G. G., and R. L. Muldoon. Viruses causing respiratory infection in man. IV. Reoviruses and adenoviruses. J. Infect. Dis. 128:812-833. 1973.
4. Johnson, D. C., and L. van der Heide. Incidence of tenosynovitis in Maine broilers. Avian Dis. 15:829-834. 1971.
5. Kawamura, H., F. Shimizu, M. Maeda, and H. Tsubahara. Avian reovirus: its properties and serological classification. Natl. Inst. Anim. Health Q. (Yatabe) 5:115-124. 1965.
6. Kerr, K. M., and N. O. Olson. Pathology of chickens experimentally inoculated or contact-infected with an arthritis-producing virus. Avian Dis. 13:729-745. 1969.
7. Kisary, J., B. Nagy, and Z. Bitay. Presence of parvovirus in the intestine of chickens showing stunting syndrome. Avian Pathol. 13:339-343. 1984.
8. Olson, N. O., and D. P. Solomon. A natural outbreak of synovitis caused by the viral arthritis agent. Avian Dis. 12:311-316. 1968.
9. Olson, N. O., and R. Weiss. Similarity between arthritis virus and Fahey-Crawley virus. Avian Dis. 16:535-540. 1972.
10. Page, R. K., O. J. Fletcher, G. N. Rowland, D. Gaudry, and P. Villegas. Malabsorption syndrome in broiler chickens. Avian Dis. 26:618-624. 1982.
11. Petek, M., B. Felluga, G. Borghi, and A. Baroni. The Crawley agent: a reovirus. Arch. Gesamte Virusforsch. 21:414-424. 1967.
12. Robertson, M. D., and G. E. Wilcox. Avian Reovirus. Vet. Bull. 56:155-174. 1986.
13. Rosenberger, J. K. Characterization of reoviruses associated with runting syndrome in chickens. In: Proceeding No. 66, International Union of Immunological Societies, Sydney, New South Wales, Australia, pp. 141-152. 1983.
14. Rosenberger, J. K., and N. O. Olson. Viral arthritis. In: Diseases of poultry, 10th ed. B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, L. R. McDougald, and Y. M. Saif, eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa. pp. 711-720. 1997.
15. Sahu, S. P., and N. O. Olson. Comparison of the characteristics of avian reoviruses isolated from digestive and respiratory tract with viruses isolated from the synovia. Am. J. Vet. Res. 36:847-850. 1975.
16. Sahu, S. P., N. O. Olson, and R. W. Townsend. Characterization of avian reoviruses isolated from the synovia and breast blister. Avian Dis. 23:896-903. 1979.
17. Stuart, B. P., R. J. Cole, E. R. Waller, and R. E. Vesonder. Proventricular hyperplasia malabsorption syndrome in broiler chickens. J. Environ. Pathol. Toxicol. 6:369-386. 1986.
18. van der Heide, L. Viral arthritis/tenosynovitis: a review. Avian Pathol. 6:271-284. 1977.
19. van der Heide, L., M. Kalbac, and M. Brustolon. Development of an attenuated apathogenic reovirus vaccine against viral arthritis/tenosynovitis. Avian Dis. 27:698-706. 1983.
20. van der Heide, L., D. Lutticken, and M. Horzinek. Isolation of avian reovirus as a possible etiologic agent of osteoporosis "brittle bone disease"، "femoral head necrosis" in broiler chickens. Avian Dis. 25:847-856. 1981.
21. Walker, E. R., M. H. Friedman, and N. O. Olson. Electron microscopic study of an avian reovirus that causes arthritis. J. Ultrastruct. Res. 41:67-79. 1972.
22. Witter, R. L. Reticuloendotheliosis. In: Diseases of poultry, 10th ed. B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, L. R. McDougald, and Y. M. Saif, eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa. pp. 467-484. 1997.
23. Wooley, R. E., T. A. Dees, A. L. Cromack, and J. B. Gratzek. Infectious enteritis of turkeys: characterization of two reoviruses isolated by sucrose density gradient centrifugation from turkeys with enteritis. Am. J. Vet. Res. 33:165-170. 1972.
24. Wyeth, P. J., N. T. Chettle, and J. Labrano. Avian calicivirus. Vet. Rec. 109:477. 1981