الفصل الحادي والأربعون

فيروس بارفو الإوز (مرض ديرزي)
GOOSE PARVOVIRUS (DERZSY'S DISEASE)

ريتشارد إ. غوف
Richard E. Gough

الملخص Summary

يتسبب مرض ديرزي بفيروس بارفو تلقائي التكاثر. يمكن أن ينتج عن المرض ١٠٠٪ نفوق في الإوز الصغير والبط المسكوفي الصغير تحت ١٠ أيام من العمر. وجدت فروق معنوية بين مجينات معزولات الإوز والبط المسكوفي.

تعريف المسبب Agent Identification

يجرى تشخيص المرض بعزل الفيروس في أجنة بيض الإوز أو البط المسكوفي أو في مزارع الخلية المشتقة من هذه العوامل. يؤكد التعرف على الفيروسات المعزولة بالمجهر الإلكتروني واختبار تعادل الفيروس.

الكشف المصلي Serologic Detection in the Host

يجري عادة التأكيد المصلي بواسطة اختبارات التعادل الفيروسي أو الترسيب في الآجار. تتوافر اللقاحات لكل من الإوز والبط المسكوفي.

مقدمة Introduction

عدوى فيروس بارفو الإوز تسمى أيضاً مرض ديرزي أو التهاب الكبد في الإوز أو طاعون الإوز وهو مرض عالي الوبائية يصيب الإوز والبط المسكوفي الصغير. لم يسجل وجود هذا المرض بعيداً عن هذين النوعين من الطيور في أنواع الطيور الأخرى أو الثدييات. إن أول وصف لهذا المرض كان في الصين عام ١٩٥٦م، ولكن لم يتم تسجيل المرض من معظم مزارع الإوز والبط المسكوفي في البلاد المنتجة في العالم (2).

ترجع وبائيات المرض غالباً إلى الانتقال عن طريق البيض من أمهات التربية للإوز والبط المسكوفي كامنة الإصابة. تسبب هذه تمرير الإصابة للطيور القابلة للإصابة عند وقت الفقس أو بعد ذلك سريعاً. قد تصبح الطيور التي تقاوم العدوى حاملة للفيروس طوال حياتها.

المرض الإكلينيكي Clinical Disease

تختلف الأعراض والإصابة والنفوق في الإوز والبط الصغير القابل للإصابة تبعاً لعمر الطيور وقت الإصابة. قد تصل نسبة النفوق إلى ١٠٠٪ في الإوز المصاب في المفقس مع ظهور الأعراض والنفوق من ٥ — ١٠ أيام بعد ذلك. قد تختلف فترة الحضانة والنفوق في الطيور عند عمر ٢ — ٣ أسابيع (6). بداية، تُظهر الطيور المريضة خمولاً وضعفاً مع عدم الميل للحركة وتحدث إفرازات من الأنف والعين في طيور عديدة مع اهتزاز الرأس. عادة تتضخم الغدة الزيتية وجفون العين وتكون حمراء مع إسهال أبيض شديد في عديد من الطيور. يوضح فحص الطيور عند هذه المرحلة وجود غشاء تليفي كاذب يغطي اللسان وتجويف الفم. قد تتحول الطيور التي تقاوم الحالة الحادة إلى مرض مزمن ويتميز بتأخر شديد في النمو وفقدان الزغب حول الرقبة والظهر واحمرار ملحوظ في الجلد العاري. قد تتراكم سوائل الاستسقاء في البطن والتي تجعل الإوز يقف في وضع طائر البطريق. الإوز والبط الصغير أكبر من أربعة أسابيع نادراً ما يوضح أعراضاً مرضية. في الحالة الحادة، تكون الآفات شائعة في القلب على شكل شحوب في عضلة القلب ويتميز باستدارة قمته. قد يتضخم الكبد والطحال والبنكرياس مع الاحتقان. قد توجد الآفات الأخرى المختلفة في حالة طول فترة المرض الالتهاب التليفي في الأغشية المصلية للكبد وغشاء التامور يكون موجوداً مع كمية كبيرة من سوائل بلون القش في تجويف البطن. قد توجد أيضاً أوديما الرئوية وتغيرات نخرية في الكبد والتهاب معوي. الأقل تكراراً هو إمكانية رؤية الأنزفة على الفخذ والعضلات الصدرية. قد تشاهد آفات دفتيرية تقرحية في الفم والبلعوم والمريء اعتماداً على وجود العدوى الثانوية.

نسيجياً، تكون الآفات الرئيسية عبارة عن تغيرات تدميرية واضحة في خلايا عضلات القلب (الطبقة العضلية) وخلايا الكبد مع التجويف أو ارتشاح أو تخلل دهني ووجود الاحتوائيات داخل الأنوية مبعثرة من النوع كاودراي A. تحدث تغيرات مشابهة في البنكرياس والكلية والطحال وبيرسا فايريسي والغدد التوتية.

جمع العينات Sample Collection

في الحالة الحادة للمرض، يمكن جمع الزرق من الطيور المصابة لمحاولة العزل الفيروسي والإظهار بواسطة المجهر الإلكتروني النافذ. عند الفحص التشريحي المرضي يجب أخذ العينات من القلب والكبد والطحال والكلى. للعزل الفيروسي ويجب إرسال العينات عند ٤ °م تقريباً في إناء محمي من الشرخ مع ثلج أو أي مبردات مناسبة

أخرى. عند التأخير لأكثر من يومين، يجب تجميد العينات قبل الإرسال. بقدر الإمكان بعد النفوق توضع العينات المناسبة خاصة الأعضاء أو الأنسجة التي بها آفات نوعية في ١٠٪ فورمالين منظم للفحص النسيجي. بسبب إمكانية انتقال فيروس بارفو رأسياً، يجب فحص الأجنة التي تنفق أثناء التحضين أو مباشرة بعد الفقس لوجود الفيروس. يمكن اكتشاف الأجسام المضادة في عينات الدم من البط والإوز اليافع ونسله. يمكن أن تجمع أيضاً عينات من الصفرة من البيض غير المخصب لتقييم الأجسام المضادة.

بيئات الزرع المفضلة Preferred Culture Media

لمحاولة العزل الفيروسي يجهز معلق نسيجي ٢٠٪ في محلول ملح فوسفاتي منظم مع المضادات الحيوية ويحقن في أيٍّ من أجنة بيض الإوز أو البط المسكوفي أو مزارع الخلية المشتقة منهما.

الزرع في أجنة البيض Culture in Embryonating Eggs

يمكن عزل الفيروس عقب الحقن في كيس الألنتويس لأجنة الإوز أو البط المسكوفي عند عمر ١٠– ١٥ يوماً وتكون خالية من الأجسام المضادة لفيروس بارفو. بعد التحضين عند ٣٧ °م يحدث عادة النفوق مع الأنزفة في الكبد والأنسجة خلال ٥ – ١٢ يوماً. يحدث بالتمرير الأكثر نفوق الأجنة بشكل ثابت وعادي بين ٤– ٦ أيام بعد الحقن. يجب إجراء تمريرتين على الأقل قبل اعتبار محاولة عزل الفيروس سلبية.

مزارع الخلية Cell Culture

تكون مزارع الخلية الأولية لأجنة الإوز أو البط المسكوفي عند عمر ١٢ – ١٥ يوماً مناسبة لعزل فيروس البارفو. من الشائع مع فيروسات بارفو الثدييات تسهيل العزل بحقن مزارع الخلية قبل أن تكون الطبقة الواحدة المندمجة، ويفضل عند وقت الزرع. ينتج الفيروس تأثيراً مرضياً خلوياً محدداً ٣ – ٥ أيام بعد الحقن، ومتكوناً من خلايا مستديرة منكسرة في الضوء. يتطور التأثير المرضي الخلوي إلى تدمير كامل لخلايا الطبقة الواحدة بعد ٦ – ٧ أيام.

تعريف المسبب Agent Identification

الشكل المورفولوجي Morphology

فحص الزرق من الطيور المصابة أو الخامات الناتجة من الزرع بواسطة الفحص المباشر بالمجهر الإلكتروني غالباً يوضح جزيئات فيروس بارفو. يتراوح نصف قطر الفيروس المتماسك من ٢٠ – ٢٢ نانوميكروناً وهو لا يحتوي على غلاف وسداسي الشكل وله ٣٢ كابسومير محددة (2).

الخصائص الفيزيوكيميائية Physicochemical Properties

هذا الفيروس مقاوم جداً للإبطال الفيزيائي أو الكيميائي. لا يحدث فقد للإمراضية عقب التسخين عند ٦٥°م لمدة ٣٠ دقيقة (2). وهو مقاوم للإيثير والكلورفورم ويحتمل رقم حموضة ٣ لمدة ساعة عند ٣٧°م تحت الظروف خارج جسم العائل، وتدمر الإمراضية عقب المعاملة بتركيز ٠,٥٪ من الفورمالدهايد (7).

التعرف الجزيئي Molecular Identification

فيروس بارفو له حامض نووي ديوكسي ريبوزي يتكون من حوالي ٥٦٠٠ قاعدة. تم التعرف على بروتينات عند منطقة ٩١ و ٧٨ و ٥٨ كيلودالتون باستخدام معزولات من البط المسكوفي وبروتين آخر عند ٥١ كيلودالتون (8). إن الجزيئات الفيروسية المعدية لها كثافة تقريبية ١,٣٨ جم/مل من كلوريد السيزيوم (5).

كشف الأنتيجين Antigen Detection

يمكن اكتشاف الأنتيجين الفيروسي بواسطة التألق المناعي في الأحشاء خاصة الكبد من الإوز المصاب ومزارع الخلية (12). للأجسام المضادة الأولية، يحصل على جلوبيولين فيروس بارفو المضاد لمصل الإوز والمحضر في الإوز بالترسيب الثلاثي لمصل الإوز فائق المناعة باستخدام ٣٣٪ سلفات الأمونيوم. يحدد تركيز البروتين ويعلم جزء الجلوبيولونيات المناعية مع صبغة إيزوسيوسيانات الفلوروسين (FITC). عند تطبيقه على مسحات الطبع من الكبد أو الطحال من الإوز المصاب ومزارع الخلية المصابة تتألق أنوية الخلايا باللمعان.

أيضاً طور اختبار الإليزا الجاذب للأنتيجين لكشف أنتيجين فيروس بارفو في مزارع الخلية (4) والأنسجة من الإوز (11)، إلا أن هذه التقنيات لم تقرر بعد.

طورت تقنية الترسيب في الآجار لاكتشاف أنتيجينات فيروس بارفو في أنسجة الأجنة وسوائل الألنتويس من الأجنة المصابة (2). عقب حقن أجنة الإوز أو البط المسكوفي عند عمر ١٠ — ١٥ يوماً بالعينات المراد تشخيصها، يمكن أن تفحص الأجنة التي تموت لوجود الأنتيجين. تجمع الأجنة النافقة وسوائل الألنتويس والأمنيون، وتزال رؤوس وأطراف الأجنة، وتعلق في السوائل الجنينية بنسبة ٢٠٪ (وزن/ حجم). بعد التجانس يخلط المعلق مع حجم مساوي من ثلاثي كلوريد ثلاثي فلور إيثان trichlorotrifluorethane (Arcton 113, ICI, London, United Kingdom) لمدة ٣٠ دقيقة ويعقبها الطرد المركزي عند ٣٠٠٠ إكس جي لمدة ١٥ دقيقة. يؤخذ السائل الرائق لطرد مركزي أكبر عند ٤٦٠٠٠ إكس جي لمدة ساعتين عند ٤°م. تعليق الراسب الناتج يعاد في حجم قليل من الماء منزوع الأيونات ويعامل بكمية ٠,١٪ لورايل ساركوسينات N-lauroylsarcosine (Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo.). تجهز أطباق الآجار باستعمال ١٪ آجار رقم ٢ (Oxoid, distr. Unipath, Ogdensburg, N.Y.) في ٨٪ محلول كلوريد

الصوديوم بي إتش ٧,٨. يخرم الآجار بالشكل القياسي المعروف (الشكل السداسي) وتوضع كميات صغيرة من المصل المضاد المرسِّب لفيروسات بارفو الإيجابي في حفر على جانبي الأنتيجين مع الأنتيجين الضابط المعلوم في الحفرة المركزية. يحدث الانتشار عند ٢٠ – ٢٢ °م وتفحص الأطباق لخطوط الترسيب بعد حوالي ٢٤ ساعة تقريباً. تسجل النتائج الإيجابية عندما يكون خط الترسيب بين الحفر الضابطة الإيجابية متصلاً مع الخط بين الأنتيجين المختبر.

التقنيات المناعية Immunologic Techniques

يمكن استخدام اختبارات التعادل في مزارع خلية الإوز أو البط المسكوفي أو أجنة البيض باستخدام مضادات مصلية أحادية التخصص لفيروس بارفو للتعرف على الفيروس المعزول. وصفت طرق أخرى وتشمل اختبار تناقص البقع (13) وتحليل منع تلازن الحيوانات المنوية (10)، لكن لم تقيم هذه التقنيات كاملة.

الكشف المصلي في العائل Serologic Detection in the Host

تفيد الاختبارات المصلية في تقييم الحالة المناعية لقطعان الأمهات للإوز والبط المسكوفي والنسل الناتج. إن غياب أو وجود الأجسام المضادة للفيروس في أمهات الإوز يستطيع أن يحدد قابلية أو عرضة النسل للإصابة. يفيد أيضاً الفحص المصلي كوسيلة تشخيصية في تأكيد الوبائيات الحديثة للمرض في الإوز والبط المسكوفي. يعطي أيضاً ظهور الأجسام المضادة المشتقة من المح في البيض معلومات على مستوى المناعة أو الأجسام المضادة الأمية للنتاج.

اختبار تعادل الفيروس Virus-Neutralization (VN) Test

يمكن إجراؤه في بيض أجنة الإوز أو البط المسكوفي أو مزارع الخلية الأولية المشتقة منهما. تم تطوير معزولة فيروس بارفو الإوز المتأقلمة للنمو في بيض اجنة البط البكيني أو (خاكي كامبل) لاختبار تعادل الفيروس (1). من الأفضل أن يتم إجراء الاختبار باستعمال فيروس ثابت ومصل متغير أو مخفف (طريقة بيتا). تتفاعل تخفيفات الأمصال المعاملة حرارياً (٥٦ °م لمدة ٣٠ دقيقة) مع ٦ — ٦٠٠ TCD_{50} أو EID_{50} من الفيروس، وبعد ساعة عند ٣٧ °م تحقن أنظمة الزرع المختلفة حسب الطريقة المستعملة بمخلوط تخفيف المصل والفيروس. بعد ٧ أيام يعبر عن مستويات الأجسام المضادة باللوغاريتم الثاني $\log_2$ لمقلوب أعلى تخفيف من المصل الذي يحدث تعادلاً كاملاً للفيروس. معيار ٤ (١ : ١٦) أو أكبر يعتبر إيجابياً للأجسام المضادة لفيروس بارفو الإوز.

اختبار الترسيب في الآجار Agar-Gel Precipitin Test

على الرغم من أنه أقل حساسية من اختبار التعادل، فإن هذا الاختبار يمثل طريقة مفيدة في اختبار أعداد كبيرة من الأمصال سريعاً لوجود الأجسام المضادة لفيروس بارفو الإوز (1). يستخلص الأنتيجين ويركز من أجنة البط المصابة عقب الإعداد أو حقنها بفيروس بارفو المتأقلم على أجنة بيض البط. تجرى الاختبارات في أطباق الآجار التي تحتوي على ١٪ آجار رقم ٢ أو آجاروز في ٨٪ محلول ملح عند رقم حموضة ٧,٨. يحدث الانتشار عند درجة حرارة الغرفة وتفحص الأطباق لخطوط الترسيب بعد ٢٤ ساعة. الأمصال المسجلة على أنها إيجابية يمكن أن تخفف بالمتسلسل المزدوج أو الثنائي لتحديد معيار الأجسام المضادة.

الاختبارات المصلية الأخرى Other Serologic Tests

تم تطوير الإليزا لاكتشاف الأجسام المضادة لفيروس بارفو في كلٍّ من الإوز أو البط المسكوفي (2). طورت الإليزا المحاصرة والتي تضم الجلوبيولينات المناعية IgG الخاصة بالإوز والمضادة لفيروس بارفو الإوز وتم مقارنتها بالاختبارات المصلية الأخرى (4). أوضحت النتائج أنها طريقة سريعة ومعبرة وسهلة الإجراء ومرتبطة جيداً مع اختبار تعادل الفيروس. المشكلة التي تحدث جراء استخدام هذا الاختبار عند استعمال إوز غير خالي من المسببات المرضية لإنتاج المصل والجلوبيولين المناعي G للاستعمال في الإليزا.

التفريق من العوامل الممرضة قريبة الصلة Differentiation from Closely Related Agents

سابقاً، اُعتقد أن فيروسات بارفو من الإوز والبط المسكوفي نشأت لأنهما قريبي الصلة أنتيجينياً، إلا أنه عقب انشقاق أكثر من عترة ضارية من فيروس البط المسكوفي أوضحت الدراسات التي تستخدم تعادل الفيروس والقصر الإنزيمي الطرفي فروقاً معنوية بين معزولات الإوز والبط المسكوفي (14, 3).

طور مسبار الحمض النووي الديوكسي ريبوزي والملصق بمادة ديجوكسيجينين (digoxigenin) لاكتشاف فيروس بارفو البط المسكوفي. ثبت أن هذا التحليل حساساً لكشف عترات فيروس بارفو وتفريق المعزولات عن العترات المشتقة من اللقاح (9). الفيروسات المصاحبة لفيروسات أدينو الطيور هي فيروسات بارفو النافقة والتي قد تصاحب مع الإصابة بفيروسات أدينو. في غياب فيروس أدينو المساعد لا تستطيع فيروسات بارفو هذه أن تتكاثر تحت الظروف خارج الجسم الحي.

توجد ممرضات قليلة جداً في الإوز والبط المسكوفي التي تظهر الارتباط الشديد بالعمر لمرض ديرزي. يحدث فيروس هيربس البط التهاب معوي فيروس مسبباً نفوقاً مرتفعاً في الإوز والبط في كل الأعمار. يستطيع عزل وتعريف الفيروس المسبب أن يفرق بوضوح فيروس بارفو الإوز. يسبب أيضاً فيروس الالتهاب الكبدي في البط

أمراضاً قاتلة في البط تحت عمر ستة أسابيع ، إلا أن هذه الفيروسات تكون غير ممرضة للإوز والبط المسكوفي. تحدث الإصابة بالالتهاب الكلوي والمعوي النزفي في الإوز (HNEG) من عمر ٤ – ٢٠ أسبوعاً. سجل هذا المرض لأول مرة من مناطق معينة في فرنسا عام ١٩٧٠م وأُرجع على أنه شكل متأخر من مرض ديرزي ، وفي الحاضر لم تعزل عوامل ممرضة من حالات HNEG وفشلت نتائج دراسات الحماية في تأكيد العلاقة مع فيروس بارفو الإوز. وصف مرض في البط المسكوفي عند عمر ٢ —٨ أسابيع وسمي مرض فيروس K في البط المسكوفي. يعتقد أن العامل المسبب فيروس ريو ولا يسبب مرض في الإوز.

قد تسبب أيضاً ميكروبات باستيريللا أناتيبيستفر وباستيريللا ملتوسيدا نفوقاً عالياً في الإوز والبط المسكوفي. يمكن التفريق عن فيروس بارفو الإوز من خلال العلاج بالمضادات الحيوية المناسبة والزرع للعامل المسبب في بيئة مناسبة.

References المراجع

1. Gough, R. E. Application of the agar gel precipitin and virus neutralization tests to the serological study of goose parvovirus. Avian Pathol. 13:501-509. 1984.
2. Gough, R. E. Goose Parvovirus. 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. 777-783. 1997.
3. Jestin, V., M.-O. Le Bras, M. Cherbonnel, G. Le Gall, and G. Bennejean. Demonstration of very pathogenic parvoviruses (Derzsy's disease virus) in Muscovy duck farms. Reel. Med. Vet. 167:849-857. 1991.
4. Kardi, V., and E. Szegletes. Use of ELISA procedures for the detection of Derzsy's disease virus of geese and of antibodies produced against it. Avian Pathol. 25:25-34. 1996.
5. Kisary, J. Bouyant density of goose parvovirus strain B. Acta Vet. Acad. Sci. Hung. 23:205-207. 1976.
6. Kisary, J. Diagnosis and control of parvovirus infection of geese (Derzsy's disease). In: Acute virus infections of poultry. J. B. McFerran and M. S. McNulty, eds. For the Commission of the European Communities. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands. pp. 239-242. 1986.
7. Kisary, J. Derzsy's disease of geese. In: Virus infections of birds. J. B. McFerran and M. S. McNulty, eds. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, The Netherlands, pp. 157-162. 1993.
8. Le Gall-Recule, G., and V. Jestin. Biochemical and genomic characterization of Muscovy duck parvovirus. Arch. Virol. 139:121-131. 1994.
9. Le Gall-Recule, G., and V. Jestin. A digoxigenin-labelled DNA probe for the detection of Muscovy duck parvovirus. In: New and evolving virus diseases of poultry. M. S. McNulty and J. B. McFerran, eds. European Commission in Brussels, December 15-16, 1992. CEC, Brussels, Belgium, pp. 157-166. 1994.
10. Malkinson, M., B. A. Peleg, N. Ron, and E. Kalmar. The assay of gosling hepatitis virus and antibody by sperm agglutination and sperm agglutination-inhibition. Avian Pathol. 3:201-209. 1974.
11. Roszkowski, J., P. Gazdzinski, W. Kozaczynski, and M. Bartoszcze. Application of the immunoperoxidase technique for the detection of Derzsy's disease virus antigen in cell culture and goslings. Avian Pathol. 11:571-578. 1982.
12. Schettler, C. H. Virus hepatitis of geese: 3. Properties of the causal agent. Avian Pathol. 2:179-193. 1973.
13. Takehara, K., K. Hyakutake, T. Imamura, K. Mutoh, and M. Yoshimura. Isolation, identification and plaque titration of parvovirus from Muscovy ducks in Japan. Avian Dis. 38:810-815. 1994.
14. Zadori, Z., J. Erdei, J. Nagy, and J. Kisary. Characteristics of the genome of goose parvovirus. Avian Pathol. 23:359-364. 1994.