

التهاب المخ الطيري (الارتعاش الوبائي)

AVIAN ENCEPHALOMYELITIS

Louis van der Heide

Summary

التهاب المخ الطيري (AE) أو الارتعاش الوبائي هو مرض فيروسي معدي يصيب الدواجن ويتسبب بواسطة فيروس بيكورنا. الدجاج والرومي والفران والسمان معرضين للإصابة الطبيعية. التهاب المخ الطيري هو مرض ينتقل عن طريق البيض. إذا أصيب دجاج الأمهات بالفيروس أثناء الإنتاج فقد يظهر على النسل الناتج أعراض المرض في الأربعة الأسابيع الأولى من الحياة. قد يحدث الانتقال الأفقي أيضاً بين الصيصان المصابة والمعرضة أو بين الطيور البالغة أيضاً. تمثل خسائر الصوص وانخفاض إنتاج البيض أهم العوامل الاقتصادية الرئيسية لمرض التهاب المخ الطيري.

Agent Identification

الاختبارات الأولية التشخيصية المفضلة هي عزل الفيروس في أجنة بيض الدجاج عند عمر ستة أيام بحقن كيس المح و/أو إظهار الأنتيجين الفيروسي في الأنسجة من الدواجن المشتبهة.

Serologic Detection in the Host

تتعرف الاختبارات التشخيصية الثانوية على الأجسام المضادة للفيروس في أمصال الدواجن المشتبهة بواسطة اختبار تعادل الفيروس مستخدماً العترة المتأقلمة على الجنين فان روكيل Van Roekel لفيروس التهاب المخ الطيري أو اختبار الإليزا أو اختبار قابلية جنين الدجاج للإصابة chicken embryo susceptibility test.

Introduction

التهاب المخ الطيري هو مرض فيروسي معدي في الدواجن والذي يتميز في الدجاج الصغير أو الرومي أو الفران أو السمان بأعراض اختلال الجهاز العصبي المركزي مع إصابة عالية ونفوق متفاوت. يمكن أن تصاب الطيور الأكبر لكن نادراً ما تتطور إلى أعراض مرضية.

أُعطي اسم الارتعاش الوبائي للمرض بواسطة د. إليزابيث جونز في عام ١٩٣٤م (11). في عام ١٩٣٩م كان اسم التهاب المخ الطيري هو المقبول رسمياً، وهو مرض ينتقل عن طريق البيض ومن ثم تحصين الأمهات يكون إجراءً وقائياً ضرورياً ضد المرض.

Clinical Disease

يتميز المرض في الصوص الصغير عمر ١ - ٤ أسابيع بالأعراض العصبية مثل الشلل واختلال الحركة وارتعاشات سريعة للرأس والرقبة. الآفات العينية تقتصر أحياناً على العمى من تراكم الماء في العين كنتيجة للإصابة. تشمل الآفات المجهرية تدميراً في الخلايا العصبية (خلايا الشبح) وخاصة في النخاع والقرون الأمامية للحبل الشوكي الفقري. قد يوجد العديد من التجمعات الليمفاوية المستديرة في البنكرياس وفي النسيج العضلي للمعدة العضلية (10). في الطيور البالغة البياضة، لا تسبب الإصابة بفيروس التهاب المخ أعراضاً عصبية لكنها تخفض إنتاج البيض بنسبة ١٠٪ - ١٥٪ على أسس القطيع. يرجع إنتاج البيض إلى المستوى الطبيعي في حوالي أسبوعين.

Sample Collection

يكون عزل الفيروس أفضل من الطيور التي بها أعراض عصبية مبكرة للمرض ولم تصاب لأكثر من ٢ أو ٣ أيام. تجمع الأناخ بشكل معقم من عدة طيور وتحفظ عند -٢٠°م أو أقل حتى تجهز للحقن. تطحن أنسجة المخ مع شوربة مغذية تضاف لعمل معلق ١٠٪ - ٢٥٪ ثم تطرد مركزياً عند ١٠٠٠ إكس جي لمدة ١٠ دقائق ويجمع الرائق ويضاف إليه البنسلين (١٠٠٠٠ وحدة دولية لكل مليلتر) وستربتوميسين (١٠٠ ميكروجرام لكل مليلتر) لمنع نمو أي بكتيريا ملوثة.

Preferred Culture Media and Substrates

Virus Isolation by Intracerebral Inoculation of 1-Day-Old Chicks

تحقن الصيصان القابلة للإصابة عند عمر يوم في المخ بواسطة إبرة مقاس ٢٢ أو ٢٣ بكمية ٠.٠٢٥ - ٠.٠٣ مل من المعلق. تجمع أناخ الصوص الذي يُظهر أعراضاً إكلينيكية في خلال ١ - ٤ أسابيع عقب الحقن ويستعمل للتمرير المتسلسل في صيصان قابلة.

Virus Isolation by Yolk Sac Inoculation of Embryonating Chicken Eggs

يجب أن تكون الأجنة المستخدمة من قطيع قابل للإصابة بفيروس التهاب المخ الطيري. يستخدم أجنة بيض عمر ٥ - ٦ أيام للعزل والإكثار. يجب أن يكون البيض خالياً من الممرضات النوعية و خالياً من فيروس سيلو CELO لتجنب تشابه الآفات بين الإصابة بفيروس التهاب المخ الطيري وفيروس سيلو في أجنة الدجاج والصوص الفاقس. يمكن تفريق فيروس سيلو من فيروس التهاب المخ الطيري باختبارات التعادل مع مضادات الأمصال النوعية. لعزل الفيروس ، يحقن ٠.٢ - ٠.٥ مل من المعلق المحضر سابقاً في كيس المح لعدد ٢٤ أجنة بيض عمرها ستة أيام. يفحص ١٢ جنيناً لوجود الآفات عند ١٢ يوماً بعد الحقن. تتكون الآفات التشريحية في عدم حركة الجنين (الشلل) وضمور عضلات الرجل وأحياناً موت الجنين. في حالة عدم وجود آفات ، يسمح بتفقيس الـ ١٢ بيضة الأخرى وتلاحظ الصيضان لوجود الأعراض المرضية لمدة ١٠ أيام بعد الفقس. Butterfield *et al.* (3) سجلوا أن متوسط ١٢ تمريرة ضرورياً لأقلمة ١٩ معزولة حقلية لفيروس التهاب المخ الطيري لإنتاج آفات في أجنة الدجاج. تستخدم أيضاً أجنة البيض للتمرير المتسلسل لمعزولات الفيروس المقررة لمعايرة الفيروس واختبارات التعادل للأمصال الحقلية مع عترة فيروس التهاب المخ الطيري (فان روكيل) المتأقلمة على الجنين (5, 18).

Cell Culture

غير عملية لأنه لا يلاحظ تأثير خلوي مرضي عليها.

Agent Identification

هو فيروس آر إن إيه من عائلة بيكورنا جنس الفيروس المعوى (3). لا يتأثر معيار فيروس التهاب المخ الطيري بالمعاملة بالإيثير أو الكلوروفورم (3). جزيئات فيروس التهاب المخ الطيري كروية بقطر يتراوح من ١٦,٥ حتى ٢٥ نانوميتر (3).

Fluorescent Antibody (FA) Test

هو اختبار ناجح في إظهار الأنتيجين الفيروسي لفيروس التهاب المخ الطيري في الأنسجة من الدجاج المصاب (1, 14, 17). القطاعات المجمدة ذات سمك ٦ - ٧ ميكرو من المخ والبنكرياس ، والمعدة الغدية وعند الحاجة القلب ، والقانصة والحبل الشوكي عند درجة حرارة -١٥ حتى -٢٠ م باستخدام مركبات تعليق مناسبة. توضع القطاعات على الشرائح وتجفف في الهواء وتثبت في أسيتون بارد لمدة ١٠ دقائق ثم تجفف في الهواء ثانية. تفاعل

القطاعات مع مضادات الأمصال النوعية لفيروس التهاب المخ الطيري المقترنة لمدة ٣٠ دقيقة عند درجة الغرفة في جو رطب، بعد ذلك تغسل الشرائح لمدة ٢٠ دقيقة في محلول ملح فوسفات عند درجة أس هيدروجيني ٧.٤، ثم تعلق الأغشية بواسطة أجزاء متساوية من محلول ملح فسيولوجي وجلسرول منظم عند درجة بي إتش ٧.٤. يمكن عند ذلك أن تفحص الشرائح تحت المجهر الفلورسيني.

Serologic Detection in the Host

تستخدم اختبارات مصلية مختلفة لتأكيد الإصابة والتشخيص.

Virus-Neutralization Test

تختبر الأمصال من الطيور المشتبهة للأجسام المضادة المعادلة للفيروس باستخدام عترة فان روكيل والطريقة المشروحة في الفصل السادس والأربعون على الطرق المصلية. يستخدم في الاختبار أجنة بيض عمر ستة أيام قابلة للإصابة. تحقن خمس بيضات بكل تخفيف عن طريق كيس المح. يفحص البيض ١٢ يوماً بعد الحقن للآفات النمطية لمرض التهاب المخ الطيري لتحديد نقطة نهاية المعايرة. الأمصال من الدجاج المعرض للمرض عادة له لو_{١٠٠} معامل تعادل ١.٥ - ٣.

Embryo Susceptibility Test

طور هذا الاختبار لتحديد القابلية للإصابة بالمرض أو الحالة المناعية لقطيع الأمهات (15, 16). لإجراء الاختبار، تستخدم ٣٦ بيضة تفريخ، وبعد ستة أيام من التحضين يفحص البيض ويحقن البيض المخصب عن طريق كيس المح بكمية ٠.١ مل من تخفيف ١٠^{-٣} من المعلق المحضر من عتر فان روكيل (حوالي ١٠٠٠ متوسط جرعة معدية للجنين [EID₅₀]). استخدم Calnek *et al.* (7) جرعة أقل بواقع ١٠٠ EID₅₀ لكل بيضة. عند اليوم الثاني عشر بعد الحقن، تفحص الأجنة للآفات النوعية. إذا كان كل الأجنة بها آفات، يعتبر قطيع الأمهات قابل تماماً للإصابة. إذا كان ٧٠٪ - ١٠٠٪ من الأجنة بدون آفات يعتبر قطيع الأمهات به مناعية كافية. يجب أن تسجل نسبة الأجنة بدون آفات في النتائج.

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

يستخدم لتحديد مستوى الأجسام المضادة في مصل الدم. تتوفر أطباق الإليزا تجارياً

(Kirkegaard and Perry Laboratories, Gaithersburg, Md.)

Differentiation from Closely Related Agents**Strain Variability**

كل معزولات فيروس التهاب الدماغ الطيري المسجلة وعترات اللقاح تبدو أنها متشابهة مصلياً لعترة فان روكيل وتعتبر أنها نفس النوع المصلي.

Characteristics of Vaccine Strains**Live Virus Vaccine**

اللقاح الأكثر استخداماً هو لقاح الفيروس الحي من العترة ١١٤٣ بواسطة Calnek *et al.* (9, 6, 4). هذه العترة هي عترة حقلية خفيفة يجب أن تحفظ عند ترمير جنيني قليل لاستخدام اللقاح (ليس أكثر من ترميرتين)، وإلا تصبح متأقلمة على الجنين وتفقد فعاليتها للتعاطي عن طريق الفم. العمر المفضل للتحصين بين ١٤ و١٨ أسبوعاً، على الأقل ٤ أسابيع قبل بداية وضع البيض. التطبيق من خلال ماء الشرب. يجب أن يكون معيار الفيروس الأدنى لعترة ١١٤٣ هو $EID_{50}^{10^3}$ لكل جرعة طائر.

لأن عترة اللقاح ليست متأقلمة، فإن المعايرة تتم بعمل تخفيفات متسلسلة عشوائية والحقن في الأجنة التي يجب أن تكون من قطيع قابل للإصابة وتحقن عن طريق كيس المح بكمية ٠.٢ مل لكل جنين. كضابط، وتحقن ١٠ أجنة بطريقة مشابهة بالمخفف المستخدم. يوضع البيض من كل حقنة في سلال ويسمح له بالفقس. تُعرف الصيصان الفاقسة بعلامة الجناح وتوضع في حضانة سوياً مع الضوابط للملاحظة لمدة ثلاثة أيام. يتم عمل سجل للعدد الذي يظهر الأعراض المرضية للمرض من العدد الأصلي الفاقس لكل مجموعة. يحسب متوسط الجرعة المعدية لـ ٥٠٪ بطريقة ريد ومونش (Reed and Muench (13)).

Killed-Virus Vaccine

اللقاح المحضر من عترة فان روكيل الميتة بواسطة بيتا بروبيولاكتون تتوافر تجارياً (Main Biological Laboratories, Waterville, Maine) ويتم الحصول على مناعة مناسبة من اللقاح الذي به مستوى فيروس قبل الإبطال $EID_{50}^{10^6}$ لكل مليلتر (8, 2).

Differentiation of Isolates

يمكن أيضاً أن تُسبب مسببات أخرى أعراضاً مرضية مشابهة مثل فقد الحركة والشلل واختلال التوازن في الصيصان. مرض مارك يشمل شللاً مؤقتاً يمكن أن يفرق بواسطة عزل الفيروس والفحص النسيجي (10). مرض

نيوكاسيل يكن تمييزه بواسطة الفحص النسيجي (12) وعزل الفيروس مع تأكيد فيروسات باراميكسو النوع ١ والاختبارات المصلية. نقص فيتامين هـ يمكن أن يتميز بالفحص النسيجي المجهرى (10).

References

1. Braune, M. O., and R. F. Gentry. Avian encephalomyelitis virus. II. Pathogenesis in chickens. Avian Dis. 15:648-653. 1971.
2. Butterfield, W. K., R. E. Luginbuhl, C. F. Helmboldt, and F. W. Sumner. Studies on avian encephalomyelitis. III. Immunization with an inactivated virus. Avian Dis. 5:445-450. 1961.
3. Butterfield, W. K., R. E. Luginbuhl, and C. F. Helmboldt. Characterization of avian encephalomyelitis virus (an avian enterovirus). Avian Dis. 13:363-378. 1969.
4. Calnek, B. W. Oral vaccine for avian encephalomyelitis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 139:1323. 1961.
5. Calnek, B. W., and J. H. Jehnich. Avian encephalomyelitis studies. Annu. Rept. Univ. Mass. Bull. No. 509-62. Mass. Agric. Exp. Sta., University of Massachusetts, Amherst, Mass. 1957.
6. Calnek, B. W., and J. H. Jehnich. Studies on avian encephalomyelitis. II. Immune responses to vaccination procedures. Avian Dis. 3:225-239. 1959.
7. Calnek, B. W., R. E. Luginbuhl, P. D. Mc Kercher, and H. Van Roekel. Committee report on a tentative program for the control of avian encephalomyelitis. Avian Dis. 4:456. 1961.
8. Calnek, B. W., and P. J. Taylor. Studies on avian encephalomyelitis. III. Immune response to betapropiolactone inactivated virus. Avian Dis. 4:116-122. 1960.
9. Calnek, B. W., P. J. Taylor, and M. Sevoian. Studies on avian encephalomyelitis. V. Development and application of an oral vaccine. Avian Dis. 5:297-312. 1961.
10. Helmboldt, C. F. Histopathologic differentiation of diseases of the nervous system of the domestic fowl (*Gallus gallus*). Avian Dis. 16:229-240. 1972.
11. Jones, E. E. Epidemic tremor, an encephalomyelitis affecting young chickens. J. Expt. Med. 59:781-798. 1934.
12. Jungherr, E. L., and E. L. Minard. The pathology of experimental avian pneumoencephalitis. Am. J. Vet. Res. 5:125-134. 1944.
13. Reed, L. T., and H. Muench. A simple method for estimating fifty percent endpoints. Am. J. Hyg. 27:493-497. 1938.
14. Sato, G., M. Kamada, T. Miyamae, and S. Miura. Propagation of non-egg-adapted avian encephalomyelitis virus in chick embryo brain cell culture. Avian Dis. 15:326-333. 1971.
15. Sumner, F. W., R. E. Luginbuhl, and E. L. Jungherr. Studies on avian encephalomyelitis. II. Flock survey for embryo susceptibility to the virus. Am. J. Vet. Res. 18:720-723. 1957.
16. Taylor, J. R. E., and E. P. Schelling. The distribution of avian encephalomyelitis in North America as indicated by an immunity test. Avian Dis. 4:122-132. 1960.
17. van der Heide, L. The fluorescent antibody technique in the diagnosis of avian encephalomyelitis. Tech. Bull. No. 44. Life Sciences and Agr. Expt. Sta., University of Maine, Orono, Maine. 1970.
18. Van Roekel, H., K.I. Bullis, O. S. Flint, and M. K. Clarke. Avian Encephalomyelitis. Annu. Rept. Bull. No. 388. Mass. Agric. Exp. Sta., University of Massachusetts, Amherst, Mass. 1942.