

### الالتهاب الكبدي في البط

### DUCK HEPATITIS

Peter R. Woolcock

#### Summary

يمكن أن يتسبب الالتهاب الكبدي في البط بواسطة ثلاثة فيروسات مختلفة على الأقل. الأكثر شيوعاً والمنتشر دولياً هو فيروس التهاب الكبد في البط (DVH) النوع I (فيروس بيكورنا، فيروس معوي) الذي يسبب إصابة حادة وبائية، وتسبب نفوقاً عالياً في البط الصغير أقل من ستة أسابيع من العمر وغالباً أقل من ثلاثة أسابيع من العمر. لا يسبب النوع I مرضاً في البط الكبير، وسجل النوع II في المملكة المتحدة فقط ويحدث في فراخ البط اقل من ١٠ أيام حتى ستة أسابيع ويسبب تغيرات مرضية مشابهة لتلك التي تحدث نتيجة النوع I. يعتبر النوع II من الفيروسات النجمية من خلال دراسات المجهر الإلكتروني. الالتهاب الكبدي في البط النوع III سجل فقط في الولايات المتحدة ويسبب آفات الكبد في البط الصغير لكنه أقل ضراوة من الالتهاب الكبدي في البط النوع I. يعتقد أن النوع III من فيروسات بيكورنا ولا يرتبط مصلياً مع فيروس النوع I.

#### Agent Identification

يعتمد تشخيص الالتهاب الكبدي في فراخ البط على الشكل المميز للمرض في القطيع والتغيرات المرضية العينية وعزل الفيروس من البطيطات النافقة وإحداث المرض في فراخ البط المعرضة للمرض. من الممكن التفريق بين أنواع فيروس الالتهاب الكبدي في البط I و II و III على أسس الملاحظات الإكلينيكية والمرضية، إلا أنه يمكن أن يجري التمييز من استجابة البطيطيات وأجنة البيض ومزارع الخلية لمعزولات الفيروس.

### Serologic Detection in the Host

الاختبارات المصلية لها قيمة قليلة في تشخيص الإصابات الحادة المسببة بأنواع الفيروس I و II و III. اختبارات تعادل المصل في البيض أستخدمت مع كل الفيروسات الثلاثة والاختبارات خارج الجسم قد تطورت لفيروس النوع I. أستخدمت هذه الاختبارات لاختبار الاستجابة المناعية للتحصين والرصد الوبائي وأيضاً للتعرف على الفيروس.

### Introduction

أنواع فيروسات التهاب الكبد في البط I و II و III هي المسبب للإصابات الفيروسية الحادة سريعة الانتشار المميتة في البط الصغير، وتتميز أساساً بالتهاب الكبدي. أدرك التهاب الكبد في البط الأنواع II و III كمسبب للتهاب المعوي منفصلة لأنها تحدث التهاب كبدي في فراخ البط التي لديها مناعة ضد النوع I من فيروس التهاب الكبد. البط هو العائل الطبيعي المعروف لأنواع الفيروسات الثلاثة، وهذه الأمراض ليس لها أهمية على الصحة العامة. الأمراض لها أهمية اقتصادية لكل مربي البط لأنها تحدث نفوقاً عالياً إذا لم تقاوم. أنواع فيروس التهاب الكبد دي في إتش I و II و III يجب أن لا تتداخل مع فيروس التهاب الكبد B، وفيروس هياندا المصنف في نفس المجموعة كفيروس التهاب الكبدي B للثدييات. يبدو أن هذا الفيروس له أهمية قليلة لإنتاج البط التجاري (4, 9).

### Clinical Disease

#### Duck Hepatitis Virus Type I I

النوع I لفيروس التهاب الكبد يصيب فراخ البط أقل من ستة أسابيع في العمر ويسبب الشكل الشائع للتهاب الكبدي في البط. يتصف المرض بالحدوث المفاجئ والانتشار السريع وتظهر الأعراض على فراخ البط على شكل خمول وشلل وفقد التوازن، وتسقط على الجوانب وترفس الأرجل بتشنج قبل النفوق، الذي قد يحدث في أقل من ٢١ ساعة عقب ظهور الأعراض. عند النفوق، يكون الرأس مسحوباً للخلف في وضع الجنين. عملياً كل النفوق في القطيع يحدث في خلال ٣ - ٤ أيام، مع غالبية النفوق في اليوم الثاني. التغيرات المرضية العينية تظهر ابتداءً في الكبد الذي يصبح متضخم مع أنزفة واضحة على شكل نقط أو بقع. قد يشاهد أيضاً تضخم الطحال والكليتين مع بعض الاحتقان للأوعية الدموية الكلوية (13).

**Duck Hepatitis Virus Type II II**

يحدث هذا النوع أعراضاً وآفات تشريحية مشابهة للنوع I في بط التسمين حتى عمر ستة أسابيع. تم عزله فقط في المملكة المتحدة (5). قد تظهر الطيور المصابة أعراض صعوبة البلع وإسهال مائي وكثرة إخراج أملاح حمض البوليك. تموت الطيور المصابة عادة خلال ١ - ٢ ساعة عقب بدء ظهور الأعراض. التغيرات المرضية التشريحية تشابه تلك التي تحدث في النوع I لكن الطحالات المتضخمة قد يكون بها بؤر شاحبة مبعثرة. الجهاز المعوي يكون غالباً فارغاً على الرغم أن الأمعاء الصغيرة قد تحتوي على مخاط ومناطق نزفية على جدار الأمعاء. قد تشاهد أنزفة نقطية أحياناً على القلب (5, 6).

**Duck Hepatitis Virus Type III III**

يسبب أعراضاً وآفات في البط الصغير مشابهة لتلك في النوع I (1). سجل هذا النوع فقط في الولايات المتحدة حيث وصلت الخسائر حتى ٢٠٪ في البط الصغير المحصن ضد النوع I من فيروس التهاب الكبد في البط (6).

**Sample Collection**

في البط المصاب، يحدث وجود للفيروس في الدم قبل أن تصبح الأعراض الإكلينيكية ظاهرة. يمكن عزل الفيروس من أي عضو حيوي والدم والزرق. لأن الكبد هو العضو المستهدف فإنه يمكن عزل الفيروس بواسطة طحن أنسجة الكبد كمعلق ٢٠٪ (وزن/حجم) في محلول الملح. يتقى المعلق بالطرد المركزي عند سرعة قليلة.

**Preferred Culture Media and Substrates****Duck Hepatitis Virus Type I I**

يمكن تأكيد وجود فيروس التهاب الكبد بوحدة أو أكثر من الطرق التالية:

- (١) حقن المعزولة تحت الجلد أو في العضل في بط عمر ١ - ٧ أيام قابل للإصابة بفيروس التهاب الكبد. هذه هي أفضل الطرق كفاية وحساسية، ويجب أن يعقب الحقن الأعراض الإكلينيكية المميزة للمرض مع النفوق خلال ٢٤ ساعة من الحقن. يجب أن تظهر آفات تشريحية مصاحبة لفيروس النوع I كما يجب عزل الفيروس من الكبد لتأكيد التشخيص.
- (٢) حقن تخفيفات متسلسلة من كبد متجانس في الكيس السقائي لأجنة بيض البط (عمر ١٠ - ١٤ يوماً) مأخوذة من قطيع خالي من النوع I أو أجنة بيض الدجاج (عمر ٨ - ١٠ أيام). يجب أن تموت أجنة البط المصاب بالنوع I خلال ٢٤ - ٧٢ ساعة، وأجنة الدجاج تختلف كثيراً في استجابتها وعادة تأخذ ٥ - ٨ أيام

لتنفق. السوائل السقائية تكون صفراء مخضرة شاحبة. التغيرات التشريحية في الجنين تشمل التقزم وأنزفة تحت الجلد فوق كل الجسم وأودوما خاصة مناطق البطن والأرجل الخلفية. أكباد الجنين قد تكون متضخمة حمراء إلى صفراء اللون وبها بعض البؤر النخرية. آفات الكبد والتقزم تصبح أكثر وضوحاً في الأجنة التي تأخذ وقت أطول لتنفق.

(٣) حقن المزارع الأولية لخلايا كبد أجنة البط (11) بالتخفيفات المتسلسلة لتجانس الكبد المحتوي على فيروس التهاب الكبد النوع I الذي يسبب تأثيراً مرضياً خلوياً يتصف باستدارة الخلية والنخر. يجب أن تغسل الخلايا وحيدة الطبقة عند وقت العدوى لتكون خالية من الأمصال الثديية التي تثبط ادمصاص الفيروس (3). عندما تغطي المزارع لوسط الحفظ المحتوي على ١٪ آجاروز (وزن/حجم)، يظهر التأثير المرضي الخلوي على شكل بقع، وحجم البقع يمكن أن يتم السيطرة عليه بواسطة إضافة ٠.١٪ - ٠.٢٪ مصلى أجنة العجول إلى الوسط. تظهر البقع بعد ٧٢ - ٩٦ ساعة من التحضين.

### Duck Hepatitis Virus Type II II

يمكن تأكيد وجود الفيروس بإحدى الطرق التالية:

- (١) حقن فراخ البط القابلة للإصابة عمر ١ - ٧ أيام تحت الجلد أو في العضل. قد يحدث معدل نفوق حتى ٢٠٪ خلال ٢ - ٤ يوم لكن الاستجابة متفاوتة. تشبه الآفات المرضية تلك الملحوظة في الحالات الحقلية (5).
- (٢) الحقن في أجنة بيض البط أو الدجاج عن طريق إما التجويف الأميني أو كيس المح. عادة لا يحدث موتاً للأجنة خلال المراحل المبكرة لكن قد يحدث بعض النفوق وتحديث الآفات المرضية بعد أربعة تمريرات. تأخذ الأجنة ٦ - ١٠ أيام لتظهر دلائل الإصابة، وعند حدوث ذلك تكون الأجنة متقرمة وبها كبد أخضر متنخر (6).

### Duck Hepatitis Virus Type III III

يمكن تأكيد وجود الفيروس بإحدى الطرق التالية:

- (١) الحقن في العضل ويفضل الحقن الوريدي لمعلق الكبد في فراخ البط عمر يوم. قد يصل النفوق ٢٠٪ مع معدل إصابة ٦٠٪. لا يحدث نفوق في أول ٢٤ ساعة وكل الحسائر النوعية للفيروس تحدث بين الأيام الثاني والرابع عقب الحقن.
- (٢) يحقن المعلق إلى الغشاء الكوريوالإنتويس لأجنة بيض البط عند عمر ١٠ أيام. الاستجابة تكون غير منتظمة، لكن بعض نفوق الأجنة عادة يحدث خلال ٧ - ١٠ أيام. الأغشية المصابة لها مظهر جاف قشري وتحتها

أوديميا. الأجنة قد تكون متفرقة وبها أوديميا مع أنزفة تحت الجلد. الكبد والكلى والطحال تصبح متضخمة. محاولة زرع الفيروس في أجنة بيض الدجاج أظهرت عدم نجاحها.

### Agent Identification

#### Morphology

كل أنواع فيروس التهاب الكبد عبارة عن فيروسات صغيرة غير مغلفة تحتوي على الحمض النووي آر إن إيه. تم تقسيم النوع I في عائلة فيروسات بيكورنا من الفيروسات المعوية. سجل حجم جزيء الفيروس متراوحاً بين ٢٠ - ٤٠ نانوميكرون في القطر (13). النوع II له شكل الفيروس النجمي وقطره ٢٨ - ٣٠ نانوميكرون (6). النوع III يعتقد أنه فيروس بيكورنا لا ينتمي إلى فيروس التهاب الكبد النوع I وله حجم تقريباً ٣٠ نانوميكرون في القطر (8).

#### Physicochemical Properties

تقاوم كل أنواع فيروس التهاب الكبد الثلاثة درجة الأس الهيدروجيني ٣ والتريسين ومذيبات الدهون (مثل الكلوروفورم). مقاومة الكلوروفورم لها ميزة حيث أنها تسمح بتنقية الفيروسات المعدية بينما تزيل المحتوى الدهني العالي لعينات كبد البط. لا يعمل الكلوروفورم فقط كمذيب دهون لكن أيضاً كمرسب للبروتين.

#### Duck Hepatitis Virus Type I I

هو فيروس ثابت عند ٥٠ م لمدة ٦٠ دقيقة، ولا يتكاثر بالكاتيونات الثنائية (ماغنسيوم<sup>2+</sup>) (IM Mg<sup>2+</sup>). الفيروس عالي الثبات تحت الظروف البيئية المضادة ويمكن أن يقتل بتركيز ١٪ فورمالدهايد و٢٪ صودا كاوية في ساعتين و٢٪ هيبوكلوريت الكالسيوم في ٣ ساعات وكلورامين في ٥ ساعات و٠.٢٪ فورمالين في ساعتين و٥٪ فينول ويسكوداين غير المخفف (محلول يود عضوي Penetone/West, Tenafly, N.J.) وكلوروكس غير المخفف (هيبوكلوريت الصوديوم، Clorox Company, Oakland, Calif.) (13).

#### Duck Hepatitis Virus Type II II

ثابت عند ٥٠ م لمدة ساعة. يزيل التبخير بالفورمالدهايد وطرق التطهير القياسية العدوى من العناصر الملوثة (5).

#### Duck Hepatitis Virus Type III III

يمكن أن يثبط تماماً عند ٥٠ م بغض النظر عن وجود كلوريد الماغنسيوم.

### Biological Properties

تفتقد الأنواع الثلاثة القدرة على إحداث تلازن لكرات الدم الحمراء من الطيور أو الثدييات.

### Strain Variability

#### Duck Hepatitis Virus Type I I

الكلاسيكي وهو عالي الثبات وراثياً. سجلت فيروسات تتميز مصلياً من النوع I من الهند ومصر لكن علاقتها لأنواع فيروسات التهاب كبد البط الأخرى غير معروفة. المغايرة المصلية الظاهرة بارنهاردت Barnhardt عزلت من مزرعة في الولايات المتحدة وأظهرت تعادلاً تصالياً جزئياً مع فيروس التهاب الكبد النوع I (10, 1).

#### Duck Hepatitis Virus Type II II

ويتميز مصلياً والآن اعتبر أنه فيروس منفصل وسمي الفيروس النجمي. تم عزله فقط من فراخ البط في المملكة المتحدة ولم تعزل مغايرات مصلية من النوع II.

#### Duck Hepatitis Virus Type III III

يوجد تفاعل تصالبي مصلي مع الأنواع I و II. بالرغم أن فيروس النوع III تم عزله من أكثر من منطقة جغرافية في الولايات المتحدة، إلا أنه لم تسجل أي مغايرات منه.

### Characteristics of Vaccine Strains

#### Duck Hepatitis Virus Type I I

التهاب الكبد النوع I، وهو للاستخدام في أمهات البط والبط الصغير القابل للإصابة، وينتج من النوع I المضعف بعد تمريضه أكثر من ٨٠ مرة في أجنة بيض الدجاج. عترة اللقاح مميّنة لأجنة الدجاج عمر ٨ - ١٠ أيام مسببة نفوقاً ووفيات في خلال ٤٨ - ٧٢ ساعة من الحقن. تشمل الآفات في الأجنة النافقة تقزم ونزف تحت الجلد وأوديا وأنزفة في الكبد والكلى وأحياناً تغبر لوني أخضر في الكبد. لا يمكن أن يفرق فيروس اللقاح من الفيروس الضاري على أسس أنواع الآفات الناتجة في أجنة الدجاج، ولكن الوقت المأخوذ لتطور الآفات في الأجنة يكون عادة أقصر مع فيروس اللقاح عن الفيروس الضاري للبط الصغير. وصف أيضاً لقاح ميت لفيروس التهاب الكبد النوع I (12). كلُّ من اللقاحات الحية والميتة لفيروس النوع I مرخصة للاستخدام في الولايات المتحدة.

**Duck Hepatitis Virus Type II II**: أستخدم لقاح الفيروس المضعف الحي

تجريبياً تحت ظروف الحقل لحماية البط الصغير (5). نشأ فيروس اللقاح من معزولة حقلية وأضعف بالتمرير المتسلسل ٢٥ مرة في أجنة بيض الدجاج (6). هذا اللقاح التجريبي الذي طور في المملكة المتحدة لم يرخص للاستخدام في الولايات المتحدة.

**Duck Hepatitis Virus Type III III**: لقاح حي من الفيروس النوع III

أستخدم في أمهات البط لإعطاء مناعة أمية في البط حديث الفقس. اللقاح محضر من فيروس تم إضعافه بالتمرير المتسلسل ٣٠ مرة في أجنة بيض البط ولا زال تجريبياً ولم يرخص في الوقت الحاضر للاستخدام في الولايات المتحدة.

**Differentiation of DHV Isolates**

فيروس النوع I عادة يحدث سير مرض فوق حاد ونفوقاً حتى ١٠٠٪ في خلال ٢ - ٣ أيام من بداية الأعراض ويكون غير شائع. الحدوث المفاجئ والانتشار السريع وسير المرض الحاد لهذا المرض يكون مميزاً. الآفات النزفية في كبد البط الصغير أقل من ثلاثة أسابيع من العمر عملياً غير مميزة مرضياً. النوع III من فيروس التهاب الكبد نادراً ما يسبب نفوقاً فوق ٢٠٪. النفوق المسبب بواسطة النوع II يتراوح بين ١٠٪ و ٥٠٪. فيروس النوع I هو النوع الوحيد الذي يحدث تأثيراً مرضياً خلوياً في خلايا كبد جنين البط. يتميز النوع II بشكله المحدد بواسطة الصبغ السليبي بالمجهر الإلكتروني. النوع III هو الوحيد الذي يسبب جفافاً وزيادة في سمك الغشاء الكوريوالإنوتيس في أجنة بيض البط. عند حدوث الإصابة المختلطة بفيروسات النوع I أو النوع II أو النوع III، يجب استخدام طرق غير تقنيات الزرع لأن فيروس النوع I أكثر ضراوة ويغلب على أنواع الفيروسات الأخرى في تعبيره.

**Antigen Detection****Duck Hepatitis Virus Type I I**

يستخدم العديد من الاختبارات المصلية لتعريف الفيروس:

(١) يتم التحصين المنفعل لفراخ البط عمر ١ - ٧ أيام قابلة للإصابة بفيروس التهاب الكبد النوع I تحت الجلد بكمية ١ - ٢ مل من مصل نوعي فائق المناعة أو أجسام مضادة نوعية من صفار البيض وبعد ذلك تعدى بالحقن في العضل أو تحت الجلد بعد ٢٤ ساعة بكمية ٠.٢ مل من معزولة ابفيروس (المعيار غير محدد). يتم إعداد مجموعة ضابطة من البط غير المحقون بالمصل بطريقة مشابهة. يبنى تعريف الفيروس على ٨٠٪ - ١٠٠٪ حماية في البط الصغير التي بها منفعة و ٨٠٪ - ١٠٠٪ نفوق في المجموعة الضابطة.

- (٢) يعدى بالحقن في العضل أو تحت الجلد فراخ البط عمر ١ - ٧ أيام قابلة للإصابة ومحصنة أمياً ضد فيروس التهاب الكبد النوع I بحقن ٠.٢ مل من معزولة الفيروس (المعيار غير محدد). يبني التعرف على فقدان ٨٠٪ - ١٠٠٪ في البط القابل للإصابة و ٨٠٪ - ١٠٠٪ حماية في البطيطات التي بها مناعة أمية.
- (٣) تخلط تخفيفات متسلسلة عشوائية من معزولة الفيروس مع أحجام مساوية من مصل فائق المناعة نوعي ضد فيروس النوع I مخففة ١:٥ أو ١:١٠. يترك الخليط ليتفاعل عند ٣٧°م أو درجة الغرفة لمدة ساعة ويحقن بعد ذلك في فراخ البط القابل للإصابة (٠.٢ مل تحت الجلد)، وفي التجويف السقائي لأجنة بيض البط (٠.٢ مل)، وفي خلايا كبد أجنة البط الابتدائية وحيدة الطبقة (3, 11). تتكون المجموعات الضابطة في كل حالة من معزولة الفيروس مخلوطة مع مصل ضابط عادي.

### Duck Hepatitis Virus Type II II

لم توظف التقنيات المصلية روتينياً بسبب ضعف الاستجابة المناعية للإصابة في كل من البط الصغير وأجنة البط، إلا أن اختبار التعادل أستخدم لتعريف الفيروس. تحقن أجنة الدجاج عن طريق تجويف الكيس السقائي بمخلوطات المصل الثابت-الفيروس المتغير (5). تجرى اختبارات الحماية التصالية في بط صغير عمر ٢ - ٤ أيام، وتحقن هذه بمضادات الأمصال للأنواع I و II ثم تعدى بعد ثلاثة أيام بمعزولة الفيروس (5). فيروس النوع II يمكن أن يكتشف بالمجهر الإلكتروني سالب الصبغة لتحضيرات من الكبد والزرق ويكون له شكل شبيه الفيروس النجمي (5, 6).

### Duck Hepatitis Virus Type III III

الحدوث الأقل للنفوق (حد أقصى ٢٠٪) في فراخ البط المصابة تجريبياً بفيروس النوع III يجعل اختبارات تعادل الفيروس في العائل صعباً. اختبار تعادل الفيروس باستخدام طريقة المصل الثابت الفيروس المتغير يكون ممكناً في أجنة بيض البط المحقون بطريقة الغشاء الكوريوالإنوتيس الساقط. لم تنجح محاولات إحداث تأثير مرضي خلوي بالفيروس في مزارع الخلية، على الرغم أن الفيروس يمكن اكتشافه باختبار التآلق المناعي المباشر في مزارع الخلية لكبد أجنة البط وكلى أجنة البط المصابة تجريبياً (DEK) (8).

### Serologic Detection in the Host

أستخدمت الأنواع الثلاثة في اختبارات تعادل الفيروس في البيض، لكن نجاحها يعتمد على تغيير الفيروس في نظام الاختبار المستخدم، مع فيروسات النوع II و III هذه تكون مشكلة. طورت الاختبارات خارج العائل لفيروس النوع I، وتشمل هذه اختبار تناقص البقع والمعايرة الدقيقة (11, 12). قد يجري اختبار تناقص البقع

باستخدام أي من خلايا كبد أو كلى أجنة البط الأولية. تجهز الخلايا الأولية في وسط EMEM المحتوية على ٥٪ - ١٠٪ مصلى أجنة العجول، و ٢ ملليمول جلوتامين، و ٠.١٧ بيكربونات صوديوم وجنتاميسين. تبذر الخلايا المعاملة بالتريسين في أطباق بترى ٥ سم وتحضن عند ٣٧° م في ٥٪ ثاني أكسيد الكربون. يجب أن تتكون الطبقة عند ٢٤ - ٤٨ ساعة بعد وضعها ثم تغسل مرتين بمحلول ملح EMEM أو Hank الخالي من المصل لإزالة كل بقايا مصلى أجنة العجول قبل العدوى بالفيروس النوع I.

تعلق أحجام متساوية من فيروس النوع I في EMEM خالي من المصل، وتضبط حتى ٢٠٠ وحدة تكوين بقع لكل ٠.١ مل وتخلط مع أحجام متساوية من أمصال بط مخففة تسلسلياً (تخفيفات مزدوجة أو ثنائية في EMEM). يجب أن تثبط عينات المصل عند ٥٦° م لمدة ٣٠ دقيقة قبل الاختبار. يحضن خليط الفيروس والمصل عند ٣٧° م لمدة ساعة، عند ذلك تضاف كميات من ٠.١ مل إلى الخلايا المندمجة وحيدة الطبقة بواقع ثلاثة أطباق لكل تخفيف. تترك الأطباق لمدة ٣٠ دقيقة عند درجة الغرفة (٢٠ - ٢٢° م)، ثم تغطى بالآجاروز EMEM المحتوي على ٢٪ مصلى دجاج و ٠.١٪ - ٠.٢٪ مصلى أجنة العجول مضاف إليها آجاروز بتركيز نهائي ١٪ (وزن/حجم). ا. توضع الأطباق عند ٣٧° م في جو ٥٪ من ثاني أكسيد الكربون. يسجل عدد البقع الناتجة بعد ٤٨ ساعة من التحضين. قد تلاحظ البقع باستخدام مصدر إضاءة مائل أو بدلاً من ذلك تثبت الطبقة الواحدة بالفورمالين مع محلول الملح ١٠٪ وتصبغ بالكريستال فيوليت ١٪. معيار الأجسام المضادة في المصل يعبر عنه بمقلوب أعلى تخفيف المصل الذي يخفض عدد البقع بواقع ٥٠٪.

قد يجري اختبار التعادل الدقيق باستخدام خلايا كلى أجنة البط. يجهز كالمسابق تخفيفات ثنائية متسلسلة من كل عينة مصلى في ٥٠ ميكروليتر من الوسط الأساسي الخالي من المصل، و Eagle (BME) في أطباق المعايرة الدقيقة. تضاف تقريباً ١٠<sup>٢</sup> متوسط جرعة مؤثرة على مزرعة الخلية من فيروس النوع I في ٥٠ ميكروليتر من BME المزود بشورية فوسفات التريبتوز ١٠٪، و ٢ ملليمول جلوتامين، و ٠.١٧ بيكربونات الصوديوم، و ٢٪ - ٤٪ مصلى دجاج وتضبط لتحتوي على ٣ x ١٠<sup>٥</sup> خلية لكل مليلتر. تضاف الخلايا إلى الأطباق بمعدل ١٠٠ ميكروليتر لكل حفرة وتحضن الأطباق حتى ٩٦ ساعة عند ٣٧° م في جو رطب به ٥٪ من ثاني أكسيد الكربون. عقب التحضين تثبت الخلايا كما شرح سابقاً وتقرأ الأطباق بالعين. معيار نشاط تعادل الفيروس بمقلوب أعلى تخفيف من المصل الذي عنده تنمو الطبقة الواحدة التي ليس بها دليل تأثير مرضي خلوي ومن ثم يحدث التعادل الكامل للفيروس. يعتبر المعيار أقل من ٤ لو، سالباً. اختبارات التعادل تستخدم لمعايرة استجابة المناعة الجزيئية للتحصين وللمسح الوبائي وأيضاً لتعريف الفيروس.

### Differentiation from Closely Related Agents

لا تسبب معظم الممرضات الفيروسية غير التهاب كبد البط الفيروسي مرضاً في البط أقل من ستة أسابيع من العمر، وتقاوم كل الأنواع الثلاثة لفيروس التهاب الكبد الكلورفورم الذي يقتل معظم الممرضات الفيروسية الأخرى، على سبيل المثال التهاب الأمعاء الفيروسي في البط، وفيروس مرض نيوكاسيل، وفيروس إنفلونزا الطيور. يمكن أن تمثل وبائيات المرض المسببة بالمغايرات المصلية للأنواع I و II و III مشكلة في تحديد المسبب، خاصة عندما يوجد فيروس النوع I الكلاسيكي المضعف نتيجة للتحصين. سجلت إصابات مزدوجة من النوع I والمتدثرة البيغائية (2) وفيروس إنفلونزا (7). تم تسجيل مسببات أخرى للنفوق الحاد في البط الصغير تشمل الإصابة بالسالمونيلا وسموم أفلاتوكسين. المرض الأخير قد يسبب شللاً وتشنجات والتواء الرأس للخلف وآفات مجهرية في الكبد التي تقترح التهاب الكبد لكن السموم الفطرية لا تسبب أنزفة متميزة في الكبد.

### References

1. Calnek, B. W. Duck virus hepatitis. In: Virus infections of birds. J. B. McFerran and M. S. McNulty, eds. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, The Netherlands, pp. 485-495. 1993.
2. Chalmers, W. S. K., H. Farmer, and P. R. Woolcock. Duck hepatitis virus and Chlamydia psitaci outbreak. Vet. Rec. 116:223. 1985.
3. Chalmers, W. S. K., and P. R. Woolcock. The effect of animal sera on duck hepatitis virus. Avian Pathol. 13:727-732. 1984.
4. Fernholz, D., K. Wetz, and H. Will. Hepatitis B viruses in birds. In: Virus infections of birds. J. B. McFerran and M. S. McNulty, eds. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, The Netherlands. pp. 111-119. 1993.
5. Gough, R. E., E. D. Borland, I. F. Keymer, and J. C. Stuart. An outbreak of duck hepatitis type II in commercial ducks. Avian Pathol. 14:227-236. 1985.
6. Gough, R. E., and J. C. D. Stuart. Astroviruses in ducks (duck virus hepatitis type II). In: Virus infections of birds. J. B. McFerran and M. S. McNulty, eds. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, The Netherlands. pp. 505-508. 1993.
7. Gough, R. E., and A. S. Wallis. Duck hepatitis type I and influenza in mallard ducks. Vet. Rec. 119:602-603. 1986.
8. Haider, S. A., and B. W. Calnek. In vitro isolation, propagation and characterization of duck hepatitis virus type III. Avian Dis. 23:715-729. 1979.
9. Mason, R. A., G. Seal, and J. Summers. Virus of Pekin ducks with structural and biological relatedness to human hepatitis B virus. J. Virol. 36:829-836. 1980.
10. Sandhu, T. S., B. W. Calnek, and L. Zeman. Pathologic and serologic characterization of a variant of duck hepatitis type I virus. Avian Dis. 36:932-936. 1992.
11. Woolcock, P. R. An assay for duck hepatitis virus type I in duck embryo liver cells and a comparison with other assays. Avian Pathol. 15:75-82. 1986.
12. Woolcock, P. R. Duck hepatitis virus type I: studies with inactivated vaccines in breeder ducks. Avian Pathol. 20:509-522. 1991.
13. Woolcock, P. R., and J. Fabricant. Duck virus hepatitis. In: Diseases of poultry, 9th ed. B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, W. M. Reid, and H. W. Yoder, Jr., eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa. pp. 597-608. 1991.