الفصل الأربعون

مرض البيرسا المعدي ومرض جمبورو
INFECTIOUS BURSAL DISEASE

جون ك. روزينبيرغ، وي. م. سيف، ودارال ج. جاكوود
John K. Rosenberg, Y. M. Saif, and Daral J. Jackwood

obeikandl.com

الملخص Summary

مرض البيرسا المعدي هو مرض حاد مدمر للخلايا الليمفاوية في الدجاج الصغير ويسببه فيروس مزدوج الشريط الريبوزي والمقاوم بشكل غير اعتباري للقتل بواسطة كلٍّ من الحرارة والعديد من المطهرات الشائعة. يتواجد هذا الفيروس في جميع أنحاء العالم في كل مناطق إنتاج الدواجن الرئيسية. الشكل الإكلينيكي للمرض والذي يحدث في الدجاج عند عمر ٣ – ٦ أسابيع يمكن أن يتسبب في نفوق مرتفع. يوجد الشكل تحت الإكلينيكي قبل أسبوعين من العمر ويرتبط مع التثبيط المناعي الملحوظ.

تعريف المسبب Agent Identification

يمكن أن يجرى التشخيص اعتماداً على الآفات العينية والمجهرية ، لكن العزل يقوي التشخيص.

الكشف المصلي في العائل Serologic Detection in the Host

يمكن أن تعطي نتائج الفحص المصلي من اختبار إليزا تشخيصاً افتراضياً عند مصاحبتها بالمرض الإكلينيكي والآفات العينية. يمكن أن يجرى التأكيد بواسطة اختبار الترسيب في الآجار واختبار تعادل الفيروس.

المقدمة Introduction

مرض البيرسا المعدي هو مرض حاد عالي الوبائية وقاتل للخلايا الليمفاوية للدجاج الصغير غير البالغ ويسببه فيروس آر إن إيه مزدوج الشريط. يسمى المرض غالباً جمبورو نسبة إلى المدينة حيث أدرك المرض فيها لأول مرة (9). هو مرض واسع الانتشار على مستوى العالم في أغلب مناطق إنتاج الدواجن ويعتبر مهم اقتصادياً بسبب

قدرته على إحداث تثبيط مناعي جارف في الدجاج مع زيادة القابلية للإصابات البكتيرية والفيروسية وتقليل الاستجابة للقاحات. على الرغم من عزل الفيروس من أنواع طيور أخرى مثل الرومي والنعام، إلا أن المرض يلاحظ حالياً في الدجاج فقط.

المرض الإكلينيكي Clinical Disease

يحدث عامة الشكل الإكلينيكي للمرض في الطيور التي عمرها من ٣ – ٦ أسابيع التي نفذت منها الأجسام المضادة الأمية لفيروس جمبورو. قد تبدو الطيور المصابة خاملة وليس لديها قابلية للأكل ومنتفشة الريش وتخرج إسهالاً مائياً مصبوغاً باللون الأخضر ومحتوياً على أملاح حمض البوليك. يكون النفوق متفاوتاً لكن يصل لأعلى معدل وهو ٥٠٪ تبعاً لعترة الفيروس والإصابات المركبة ويكون النفوق عادة أعلى في دجاج لجهورن مقارنة بالطيور من النوع اللاحم. بعد العدوى بحوالى ٤ – ٦ أيام، تكون البيرسا المجمعية (بيرسا فابريشياس) متضخمة وأحياناً نزفية وغالباً مغطاة بإفرازات أو ارتشاحات جيلاتينية صفراء. يعقب ذلك ضمور البورصة الذي يحدث بعد الإصابة بحوالى ٧ – ١٠ أيام. تسبب بعض مغايرات فيروس جمبورو ضموراً في البيرسا فقط (11).

تشمل الآفات المجهرية نخراً في البيرسا والطحال والغدة التوتية وغدة هاردر واللوزات الأعورية. البيرسا هي الأكثر تأثراً وتتصف بالنخر في الخلايا الليمفاوية النخاعية ويعقب ذلك الإحلال بالخلايا متعددة النواة والخلايا البلعمية. يحدث الشكل تحت الحاد للمرض في طيور أقل من أسبوعين. تصاب الأنسجة الليمفاوية لكن الدليل المرئي الوحيد للإصابة قد يكون الضمور الشديد للبيرسا. يعتبر الشكل تحت الحاد مهماً جداً لأنه يحدث تثبيطاً مناعياً شديداً.

جمع العينات Sample Collection

يمكن أن يعزل فيروس مرض البيرسا المعدي بسهولة من معظم الأنسجة الليمفاوية أثناء المراحل المبكرة للمرض (٣ – ٦ أيام بعد العدوى)، إلا أن البيرسا هي الهدف الأساسي وتحتوي عامة على تركيزات أعلى من الفيروس لفترات طويلة عن الأنسجة الأخرى، وبالتالي يعتبر النسيج الصاحب المفضل لمحاولات العزل (9). إذا اُختبرت البيرسا يجب أن يوضع في الاعتبار أنها ملوثة بعوامل انتهازية مثل فيروس ريو أو فيروس أدينو أو فيروس أنيميا الدجاج والتي تضاعف أو تعقد عملية التعرف.

لأن المرض حاد وإصابة الفيروس مؤقتة، يجب أن تجمع البيرسا من حد أدنى خمسة طيور مصابة إكلينيكياً وتحفظ متجمدة انتظاراً لمحاولات العزل. يجهز معلق ٢٠٪ (وزن/حجم) من متجانس البيرسا في شوربة فوسفات تربتوز مع مضادات حيوية (١٠٠٠٠ وحدة دولية/مل من بنسللين، و١٠٠٠٠ مجم/مل من ستربتوميسين)، ويطرد المعلق مركزياً عند ١٥٠٠ إكس جي لمدة ٢٠ دقيقة ويجمع الرائق ويحفظ متجمداً عند –٢٠ °م أو في مبرد.

أوساط الزرع المفضلة Preferred Culture Media and Substrates

يمكن تنمية فيروس مرض البيرسا المعدي الضاري واللقاحي في أجنة بيض دجاج عند عمر ٩ – ١١ يوماً مأخوذة من دجاج خالي من الأجسام المضادة الأمية للفيروس. الغشاء الكوريوني السقائي هو الأكثر حساسية على الرغم من أن الأجنة المحقونة بطريق كيس المح أيضاً تصاب بمعظم المعزولات. آفات الجنين ومعدلات النفوق قد تختلف اعتماداً على نوع فيروس مرض البيرسا المختبر. حقن المعزولات الكلاسيكية للفيروس بواسطة الغشاء الكوريوني تقتل الأجنة بعد الحقن ٣ – ٥ أيام. الأجنة النافقة تكون محتقنة مع أنزفة نقطية وبقعية ظاهرة بطول جسم الريشة ومفاصل الأصابع والمنطقة المخية. قد يكون الكبد متضخماً لكن عادة له مظهر شاحب بينما الطحال يكون وردياً أو فاقداً للون غالباً، وصغيراً إلى طبيعي الحجم مع بؤر نخرية صغيرة أحياناً. الغشاء الكوريوني السقائي عادة لا يصاب على الرغم أنه بصورة غير متكررة تشاهد أنزفة سطحية منعزلة. يمكن أن تعزل العترات المغايرة لفيروس مرض جمبورو وتنمى في أجنة الدجاج مع سهولة نسبية عندما تحقن بطريق الغشاء الكوريوني السقائي لكن عامة لا تقتل الأجنة. يجب أن تفحص الأجنة الحية ٦ – ٧ أيام بعد الحقن لوجود الآفات النموذجية التي تتكون خارجياً من أوديما المخ والبطن، تقزم ولون غير أبيض أو كريمي. نادراً إما تكون الأجنة محتقنة أو نزفية. الأكباد عادة تصبغ بلون أصفر ونخرية بينما الطحالات عادة تكون متضخمة مرتين أو ثلاثة مرات لكنها عادية اللون. يوجد التركيز الأعلى للفيروس في الغشاء الكوريوني السقائي وأنسجة الجنين شاملاً الأحشاء بعد الحقن بفترة ٦ – ٧ أيام بكلٍّ من الشكل المغاير أو الكلاسيكي للفيروس. تحتوي سوائل البيض على فيروس أقل من الأجزاء الأخرى للجنين. بالرغم أن العزل الأولي لفيروس مرض البيرسا أفضل ما يكون أن يصاحب بواسطة حقن الجنين، إلا أن الفيروس يجب أن يتأقلم لمزارع الخلية (10, 9, 5). يمكن أن ينمى الفيروس في خلايا بيرسا جنين الدجاج وخلايا الكلى والخلايا الليفية محدثاً تأثيراً مرضياً خلوياً. يمكن أن يعزل الفيروس على مختلف خطوط الخلية الثديية المعروفة شاملاً خطوط الخلية الليمفاوية وغير الليمفاوية (8, 5).

تعريف المسبب Agent Identification

الشكل المورفولوجي والخصائص الفيزيوكيميائية
Morphology and Physicochemical Properties

فيروس مرض البيرسا هو فيروس ثماني الأضلاع ولا يحتوي على غلاف من عائلة فيروسات بيرنا، وجنس فيروس بيرنا الذي يكون قطره تقريباً ٦٠ نانوميكروناً. المجين هو حمض نووي ريبوزي مزدوج الشريط يتكون من قطعتين بأوزان جزيئية ٢,٢ x $١٠^{٦}$ و٢,٥ x $١٠^{٦}$.

عرفت خمسة بروتينات تركيبية مكونة للكابسيد المتكون من ٣٢ كابسوميراً (9). فيروس مرض البيرسا المعدي مقاوم للحرارة ويظل معدياً بعد المعالجة عند ٥٦°م لمدة ٥ ساعات على الأقل. لا يتأثر الفيروس بالإيثير أو

obeikandi.com

الكلوروفورم أو الأس الهيدروجيني ٢ لكن يقتل عند أس هيدروجيني ١٢. تقل إمراضية الفيروس بشكل ملحوظ عقب المعالجة بتركيز ٠,٥٪ فورمالين لمدة ٦ ساعات، بينما مشتقات الفينول ومطهرات الأمونيوم الرباعية تكون نسبياً غير مؤثرة في تقليل معيار الفيروس (1). مقاومة الفيروس هي سبب بقاؤه على المزارع الملوثة لفترة طويلة بالرغم من التنظيف والتطهير الشديد.

تعريف الفيروس Virus Identification

يمكن استخدام اختبار الترسيب في هلام الآجار لكشف أنتيجين المجموعة النوعي لفيروس مرض البيرسا. يحضر الأنتيجين من متجانس البيرسا من طيور في المرحلة الحادة للمرض. يخلط متجانس البيرسا بنسبة ١ : ١ (وزن/حجم) مع محلول الملح المعقم ويجمد ويذاب ثلاثة مرات ويطرد مركزياً عند سرعة قليلة (٣٠٠ إكس جي) وتحجز السوائل الرائقة كأنتيجين ويختبر ضد مضاد مصل معلوم لفيروس مرض البيرسا المعدي. يجب أن يستخدم اختبار تعادل الفيروس لتعريف الفيروس في الأجنة أو في مزرعة الخلية بعد التأقلم لأنظمة العائل هذه. وصف اختبار إليزا الجاذب للأنتيجين (AC-ELISA) لكشف وتوصيف معزولات الفيروس (13, 12). الأجسام المضادة المتعددة يمكن أن تستخدم أيضاً في إليزا جاذبة الأنتيجين وقد تكون أكثر فعالية للمسح العام لعينات الأنسجة لفيروس مرض البيرسا المعدي (9).

أظهرت اختبارات التألق المناعي المباشرة وغير المباشرة أنها عالية الكفاية لكشف الأنتيجينات الفيروسية في الأنسجة المصابة. بالمثل تستخدم الكيمياء الخلوية المناعية لنفس الغرض.

يمكن أن تتفرق عترات فيروس مرض البيرسا المعدي على أسس النمط الإمراضي pathotype والشكل الأنتيجيني. يوجد على الأقل نوعان مصليان واضحان وأنماط أنتيجينية عديدة (9, 6, 5) التي يمكن أن تعرف بواسطة اختبارات التعادل التصالبي والإعداء التصالبي cross challenge. قد تختلف معزولات الفيروس في الإمراضية في كونها غير ممرضة إلى ضارية. الأخيرة تكون قادرة على إحداث نفوق عالي وتسبب دماراً شديداً للأنسجة الليمفاوية. قد تدمر المعزولات المغايرة حديثة التعرف على البيرسا بدون التهابات أو أوديما مصاحبة (11).

التعرف الجزيئي Molecular Identification

يمكن أن يستخدم النسخ العكسي المتبع بتفاعل البلمرة المتسلسل لكشف إصابة الدجاج بفيروس مرض البيرسا المعدي (14, 7, 2). تفريق العترات يكون ممكناً إذا اُختبرت منتجات تفاعل البلمرة أكثر باستخدام الإنزيمات الهاضمة (8, 4, 3). باستخدام اختبار النسخ العكسي/تفاعل البلمرة المتسلسل—الإنزيمات الهاضمة (RT/PCr-RE) لوحظت ١٠ أشكال قصرية مختلفة عند فحص ٢٢ عترة لفيروس مرض البيرسا المعدي (6). بالرغم من عدم ارتباط

الشكل القصري مع نتائج تعادل الفيروس التصالبي خارج الجسم، إلا أن اختبار (RT/RCR-RE) فرق ٢٢ فيروساً مختبراً إلى ثلاثة مجاميع جزيئية. احتوت مجموعة واحدة على فيروسات مغايرة فقط، واحتوت المجموعة الثانية على فيروسات كلاسيكية فقط، واحتوت المجموعة الثالثة على فيروسات مغايرة وكلاسيكية. في دراسة أخرى (5)، فرقت عترات فيروس مرض البيرسا المعدي التي أُعتبرت متشابهة جداً أنتيجينياً. لم توجد إمكانية لعمل ارتباط بين الإمراضية واختبار النسخ العكسي/تفاعل البلمرة المتسلسل/تباين طول القطع المهضومة في ذلك الوقت.

يمكن استخدام اختبار النسخ العكسي/تفاعل البلمرة المتسلسل/تباين طول القطع المهضومة للتفريق بين عترات فيروس مرض البيرسا المعدي على أسس الضراوة. في دراسة واحدة (11)، تم تفريق ٧١ معزولة حقلية يابانية إلى ثلاثة أنماط ممرضة: عالية الضراوة وضارية ولقاح حي مضعف.

يمكن أن يستخدم معالجة نسيج البيرسا المصاب بالفيروس بواسطة فينول : كلوروفورم : كحول أيزو إميلي (٢٥ : ٢٤ : ١) لتثبيط الفيروس بينما تحافظ على الحمض الريبوزي المطلوب لاختبار النسخ العكسي/تفاعل البلمرة المتسلسل/تباين طول القطع المهضومة (2) كما تمكن من نقل العينات غير المعدية.

الكشف المصلي في العائل Serologic Detection in the Host

يمكن أن يستخدم اختبار الترسيب في الآجار لكشف ومعايرة الأجسام المضادة في الطيور الناقهة من الإصابة. لمعايرة الأجسام المضادة تُعمل عادة تخفيفات ثنائية من المصل للحصول على نقطة نهاية. يجهز الأنتيجين من متجانس البيرسا المجموعة من طيور مصابة تجريبياً بعد ٣ – ٦ أيام من الإصابة. يجرى الاختبار كما وصف سابقاً.

يستخدم أيضاً اختبار تعادل الفيروس لمعايرة الأجسام المضادة. يجرى هذا الاختبار روتينياً في أنظمة معايرة دقيقة باستخدام الفيروس المتأقلم على مزرعة الخلية ومزرعة الخلايا الليفية لجنين الدجاج. تُجهز تخفيفات ثنائية من المصل في وسط ١٩٩ ويضاف (٠.٠٢٥ مل/حفرة) إلى الأطباق الدقيقة المحتوية على طبقة واحدة مندمجة عمرها ٢٤ ساعة من الخلايا الليفية لجنين الدجاج، وتحقن الخلايا بكمية ١٠٠٠ وحدة مكونة للبقع من الفيروس لكل حفرة وتحضن لمدة ٥ أيام عند ٣٧ْ م. قد يقلل تركيز الفيروس لتحسين الحساسية إذا كان معدل الأجسام المضادة قليلاً. عقب التحضين، يزال وسط النمو (وسط ١٩٩ و٥٪ مصل أجنة العجول) وتشطف الخلايا بمحلول منظم الفورمالين ١٠٪ لمدة خمس دقائق. يسكب الفورمالين وتصبغ الخلايا لمدة ثلاث دقائق بالكريستال فيولت ١٪. معيار التعادل يعبر عنه بمقلوب أعلى تخفيف من المصل الذي يمنع التأثير الخلوي المرضي. يعتبر اختبار تعادل الفيروس أكثر حساسية عن اختبار الترسيب ومن ثَم يجب استعماله عندما تكون مستويات الأجسام المضادة قليلة أو عندما تكون المعايرة ضرورية.

في الأعوام الحديثة، اُستخدمت الإليزا في معايرة الأجسام المضادة لفيروس مرض البيرسا المعدي. يمكن شراء أطقم الاختبار من مصادر تجارية (Kirkegaard and Perry Laboratories, Gaithersburg, Md.; IDEXX, Westbrook, Maine) ولها ميزة الحاجة إلى كميات صغيرة من المصل مع نتائج متوافقة محسنة. لا ترتبط نتائج الإليزا دائماً مع نتائج اختبار تعادل الفيروس.

التفريق من العوامل الممرضة المشابهة Differentiation from Closely Related Agents

يشخص مرض جمبورو الإكلينيكي بسهولة بسبب آفات البيرسا العينية والمجهرية المميزة الملحوظة أثناء المرحلة الحادة للمرض، إلا أن ضمور البيرسا الذي يحدث عقب المرض الإكلينيكي أو تحت الإكلينيكي قد يكون موجوداً أيضاً مع ظروف أخرى مثل مرض مارك والتسمم بالسموم الفطرية والإصابة بفيروس أنيميا الدجاج أو فيروسات ريو المنتجة المختارة. الاستجابة النسيجية مع هذه الظروف يختلف عامة عن تلك الموجودة في مرض جمبورو. الآفات النزفية المشاهدة أحياناً مع مرض جمبورو قد تشاهد أيضاً مع فيروس أنيميا الدجاج والتسمم الكيميائي أو الدوائي. تدمير الخلايا الليمفاوية الشديد والأنزفة تحت الجلدية والتغيرات في الأعضاء الدموية تكون شائعة في الطيور المصابة بمرض أنيميا الدجاج وجمبورو عند عمر صغير(≤ أسبوعين). فشل والتهاب الكلى الموجود أحياناً في الطيور التي تنفق من مرض جمبورو تنتج عادة من عدم شرب الماء. العترات السامة للكلى من فيروس الالتهاب الشعبي المعدي قد تحدث آفات شبيهة لكن يمكن تفريقها بسبب عدم وجود تغيرات في البيرسا وترتبط طبيعياً مع المرض التنفسي الحاد.

لأن فيروس مرض البيرسا المعدي قادر على إحداث التثبيط المناعي، قد يعمل كعامل مهيئ لظروف أخرى مثل التهاب الجلد الغرغريني ومتلازمة الأنيميا النخاعية النزفية والتهاب الكبد ذو الأجسام الاحتوائية والمرض التنفسي. تداخل فيروس مرض البيرسا المعدي في المرض المركب لهذه الأنواع يشخص عادة بواسطة رؤية آفات البيرسا الدائمة أو الدليل المصلي لإصابة سابقة بفيروس مرض البيرسا المعدي.

المراجع References

1. Benton, W. J., M. S. Cover, J. K. Rosenberger, and R. S. Lake. Physicochemical properties of the infectious bursal agent (IBA). Avian Dis. 11:438-445. 1967.
2. Jackwood, D. J., G. Hanes, and S. Heins-Miller. Infectious bursal disease viral RNA can be amplified using RT/PCR from bursa tissue following inactivation of the virus with phenol : chloroform. Avian Dis. 40:457-460. 1996.
3. Jackwood, D. J., and R. J. Jackwood. Infectious bursal disease viruses: molecular differentiation of antigenic subtypes among serotype 1 viruses. Avian Dis. 38:531-537. 1994.
4. Jackwood, D. J., and R. J. Jackwood. Molecular identification of infectious bursal disease virus strains. Avian Dis. 41:97-104. 1997.

5. Jackwood, D. H., and Y. M. Saif. Antigenic diversity of infectious bursal disease viruses. Avian Dis. 31:766-770. 1987.
6. Kibenge, F. S. B., A. S. Dhillon, and R. G. Russell. Biochemistry and immunology of infectious bursal disease virus. J. Gen. Virol. 69:1757-1775. 1988.
7. Lee, L. H., S. L. Yu, and H. K. Shien. Detection of infectious bursal disease virus infection using the polymerase chain reaction. J. Virol. Methods 40:243-254. 1992.
8. Liu, H.-J., J. J. Giambrone, and T. Dormitorio. Detection of genetic variations in serotype I isolates of infectious bursal disease virus using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. J. Virol. Methods 48:281-291. 1994.
9. Lukert, P. D., and Y. M. Saif. Infectious bursal disease. 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. 721-738. 1997.
10. Okoye, J. O. A. Infectious bursal disease of chickens. Vet. Bull. 54:425-436. 1984.
11. Rosenberger, J. K., S. S. Cloud, J. Gelb, E. Odor, and J. E. Dohms. Sentinel bird survey of Delmarva broiler flocks. In: Proceedings of the 20th National Meeting on Poultry Health and Condemnations, Ocean City, Md. pp. 94-101. 1985.
12. Snyder, D. B., D. P. Lana, B. R. Cho, and W. W. Marquardt. Group and strain-specific neutralization sites of infectious bursal disease virus defined with monoclonal antibodies. Avian Dis. 32:527-534. 1988.
13. Snyder, D. B., D. P. Lana, P. D. Savage, F. S. Yancey, S. A. Mengel, and W. W. Marquardt. Differentiation of infectious bursal disease viruses directly from infected tissues with neutralizing monoclonal antibodies: evidence of a major antigenic shift in recent field isolates. Avian Dis. 32:535-539. 1988.
14. Wu, C. C., T. L. Lin, H. G. Zhang, V. S. Davis, and J. A. Boyle. Molecular detection of infectious bursal disease virus by polymerase chain reaction. Avian Dis. 36:221-226. 1992.

Openkandl.com