

## التغيرات المرضية النسيجية في مخاطية المعى الدقيق لدجاج اللحم بعد اللقاح ضد فيروس مرض نيوكاسل

د. واصف سلمان الوسوف\*

(الإبداع: 9 آيار 2021، القبول: 12 آب 2021)

ملخص البحث:

يهدف البحث إلى دراسة التغيرات المرضية وردود الفعل الالتهابية والتغيرات في الخلايا البدينة والخلايا الكأسية عند دجاج اللحم بعد اللقاح ضد فيروس مرض نيوكاسل بعترة ضعيفة الضراوة. حُصن 35 طيراً من دجاج اللحم ضد فيروس مرض نيوكاسل في اليوم الثامن من عمرها بلقاح حي مضعف (العترة المُنسلة) عن طريق ماء الشرب. جمعت العينات النسيجية من المعى الدقيق لدراسة التغيرات المرضية بعد 2 و 24 و 48 و 96 و 144 ساعة من اعطاء اللقاح. ثبتت العينات بمحلول الفورمالين المتعادل 10%. وحضرت العينات بطريقة الإدماج بالبرافين و عملت شرائح نسيجية صبغت بالهيماتوكسلين والأيوزين وصبغة جيمسا. عيانياً: ظهر احتقان خفيف بعد 48 ساعة من تقديم اللقاح ونقط نزفية قليلة على الامعاء الدقيقة لبعض الطيور استمرت بالظهور حتى نهاية التجربة. مجهرياً: بدأت الخلايا البدينة بالإزدياد بعد 2 ساعة من اعطاء اللقاح وبعد 24 ساعة لوحظ ارتشاح واضح للخلايا المستعمرات والخلايا البدينة بشكل بؤري وتضخم الخلايا الكأسية مع ظهور احتقان واضح في الشعيرات الدموية وتوذم خفيف في بعض الزغابات المعوية. وجدت أعلى كثافة للمستعمرات بعد 48 ساعة، وزالت الزغيبات المعوية في بعض مناطق الأمعاء الدقيقة، ولاحقاً وجدت بؤر نخرية محدودة في الخلايا الظهارية والخلايا الكأسية. ظهرت للمفاويات والبلاعم بشكل واضح بعد 96 ساعة وظهرت بشكلٍ غالب بعد 144 ساعة من التحصين. وفي نهاية التجربة لوحظ فرط التنسج في بعض مناطق الخبايا المعوية. وبنيتها حدث نخر خلوي بؤري في الخلايا الظهارية والخلايا الكأسية ترافق مع استجابة مناعية خلوية أولية من المستعمرات والخلايا البدينة، تحولت لاحقاً إلى ارتشاح لمفاوي وخلايا بلعمية ومصورية.

الكلمات المفتاحية: التغيرات التشريحية المرضية، مرض نيوكاسل، لقاح، الخلايا البدينة، الخلايا الكأسية.

\*قسم التشريح المرضي - كلية الطب البيطري - جامعة حماة

## Histopathologic Changes of The Small Intestine Mucosa of Chickens after Vaccination against Newcastle Disease Virus

Dr. Wasef S. Alwassouf\*

(Received: 9 May 2021, Accepted: 12 August 2021)

### Abstract:

Thirty five birds eight day old were vaccinated against Newcastle disease virus with live attenuated vaccine (cloned strain) through drinking water, the birds were housed in field conditions. Histologic samples were collected for studying histopathologic changes in small intestine after 2, 24, 48, 96 and 144 of vaccine administration. Samples were fixed in buffered formalin solution 10% and embedded in Paraffin. Histologic sections 4 microns were made and stained with Hematoxiline–Eosin and Giemsa stain.

Macroscopic exam revealed a few hemorrhagic points and light congestion after 48 hour of vaccine administration which continued until the end of experiment.

Microscopic exam revealed increase in mast cells number after 2 hour of vaccination.

Focal infiltrations of Heterophils and Mast cells were observed in mucosal Lamina Propria accompanied with congestion in blood vessels, light Edema and Goblet cells hypertrophy after 24 hour of vaccination. Microvilli were removed focally in small intestine beside sever infiltration of Heterophils after 48 hour of vaccination. Focal necrosis occurred in epithelial cells and goblet cells later. Lymphocytes and macrophages appeared obviously after 96 hour of vaccination and became predominantly after 144 hour. Hyperplasia in intestinal crypt were observed at the end of experiment.

Conclusion: Focal necrosis occurred in epithelial cells and goblet cells of small intestine. These changes associated with Innate immune response after vaccination with live attenuated cloned strain of NDV consist of mast cells, heterophilis and macrophages which composed of lymphocytes, macrophages and plasma cells later.

**Key words:** Histopatologic Changes, Newcastle Disease, Vaccine, Mast Cells, Goblet Cells.

---

\*Department of Pathology, College of Veterinary Medicine, Hama Universit

## 1- مقدمة Introduction :

يعتبر مرض نيوكاسل في قطعان الدواجن من أهم الأمراض المعروفة والمنتشرة في مختلف بلدان العالم وفي سورية ونظراً للخسائر الاقتصادية الكبيرة التي يسببها المرض، فقد أجريت الكثير من الدراسات حول المسبب المرضي وتأثيراته وطرق الوقاية من المرض وخاصة اللقاحات وطرق تطويرها لزيادة فعاليتها للحد من الخسائر في مختلف بلدان العالم حتى الآن. رغم توفر لقاحات مرض نيوكاسل واستخدامها العالمي منذ الخمسينات مازال مرض نيوكاسل يشكل تهديداً ثابتاً لصناعة الدواجن، إذ توجد تقارير من بلدان عديدة تؤكد فشل هذه اللقاحات وعدم مقدرة اللقاحات الكلاسيكية ضد فيروس مرض نيوكاسل في وقف انتشاره (Bello et al. 2020, El-Mandrawy et Al. 2017)؛ وهذا جدد الاهتمام لزيادة واتمام الفهم للاستجابة المناعية ضد فيروس مرض نيوكاسل لتطوير استراتيجيات سيطرة جديدة وبرامج التدخل مستقبلاً (Darrell et al., 2013).

حظيت دراسة تأثيرات مرض نيوكاسل على أنواع الطيور المختلفة بكم هائل من البحوث خلال المئة عام الأخيرة، ومنها أبحاث اهتمت بدراسة التغيرات التشريحية المرضية وردود الفعل المناعية وتحديد المناعة الخلوية Humoral Immunity عن طريق دراسة مستوى الأضداد في الدم سواء بتأثير الفيروس نفسه أو الناجمة عن التحصين. بينما لاقت دراسة المناعة المتواسطة بالخلايا Cell-mediated immunity الاهتمام مؤخراً بسبب التقدم التقني المخبري . تأتي هذه الدراسة في هذا الإطار لزيادة فهم عمل اللقاحات على مستوى الغشاء المخاطي للأعضاء الدقيقة ودراسة تأثيرها من الناحية النسيجية وردود الفعل الالتهابية ودراسة تغيرات الخلايا البدينة والخلايا الكأسية وأهميتهما في المناعة الموضعية Local immunity للغشاء المخاطي.

## 2- هدف البحث Research Purpose :

- 1- دراسة التغيرات المرضية النسيجية العامة في الغشاء المخاطي للأعضاء الدقيقة وردود الفعل الالتهابية.
- 2- دراسة تغيرات الخلايا البدينة في الغشاء المخاطي للأعضاء الدقيقة.
- 3- دراسة تغيرات الخلايا الكأسية.
- 4- مقارنة النتائج مع الدراسات السابقة ووضع التوصيات المناسبة.

## 3- المواد وطرائق العمل Materials and Methods:

- أ- استخدم اللقاح (CL/79) cloned strain<sup>1</sup> تصنيغ شركة هيبرا Hepra، وهو مكون من فيروس حي مضعف منسل من عترة لاسوتا (عترة منسل) strain<sup>2</sup> live attenuated LaSota cloned<sup>3</sup> (Hipra, 2019).
- ب- تم تربية 35 صوص دجاج لحم من عمر يوم واحد حتى نهاية التجربة في ظروف التربية الحقلية. قسمت الطيور إلى مجموعتين منفصلتين الأولى (الشاهد) تضم 10 طيور لم تحصن والمجموعة الثانية تضم 25 طيراً أخضعت للتحصين.

<sup>1</sup> Clone: نسيلة - في المعجم الطبي الموحد (الخياط وزملاؤه. 1983).

<sup>2</sup> عترة منسله cloned strain : ترجمة الباحث

<sup>3</sup> Clone: يعني سلالة أو ذرية متطابقة جينياً أو متشابهة جداً منتجة لاجنسياً من كائن حي وحديد الخلية أو من خلية واحدة أو من جينات أعيد انتاجها بتقنيات إعادة دمج الـ DNA (Studdert et al. 2012).

ت- حُصنت الطيور ضد فيروس مرض نيوكاسل باليوم الثامن من عمر الطيور عن طريق ماء الشرب وفق توصيات الشركة المصنعة حيث أذيب اللقاح في 7 لتر ماء (عبوة مخصصة لتحصين 1000 طير). وقدم اللقاح بمشرب خاص لمدة 45 دقيقة.

ث- جرى مراقبة الطيور لتسجيل أية أعراض مرضية قد تظهر.

ج- جمع العينات المدروسة:

1- جمعت العينات بعد ساعتين و 24 و 48 و 96 و 144 من التحصين.

2- أخذت العينات للدراسة النسيجية بعد الذبح من أجزاء المعى الدقيق العفج والصائم واللفائفي من خمسة طيور محصنة واثنين من الطيور غير المحصنة في كل مرة، وسجلت التغيرات المرضية العيانية.

ح- تثبيت العينات وطرائق الصباغة النسيجية:

1- تثبتت العينات بمحلول الفورمالين المتعادل 10%.

2- حُضرت العينات بطريقة الإدماج بالبرافين، وجرى تقطيعها بسماكة 4 ميكرون.

3- صبغت الشرائح النسيجية بالصبغات التالية:

أ- الهيماتوكسلين والأيوزين لدراسة التغيرات المرضية النسيجية العامة.

ب- صبغة جيمسا للكشف عن الخلايا البدينة.

خ- فحصت الشرائح النسيجية بالمجهر الضوئي ووثقت التغيرات المرضية باستخدام كاميرا مجهرية.

#### 4- الدراسة المرجعية Literature review:

أكدت الدراسات أن دور الغشاء المخاطي المعوي ليس فقط امتصاص المواد الغذائية بل يلعب دوراً مناعياً هاماً في الحفاظ على الحالة الصحية للطيور خلال الأخماج الخطرة (Dewitt et al. 1999).

يتكاثر فيروس نيوكاسل بشكل أساسي في الجهاز التنفسي والجهاز الهضمي فبعد دخوله إلى الخلايا المستهدفة يتكاثر في الهيولى (Meulemans et al. 2015, Miller and Kochet. 2013). وتعتمد التغيرات التشريحية المرضية العيانية على ضراوة الفيروس المسبب فإذا كانت الطيور محصنة قد تغيب هذه التغيرات التي تظهر على شكل آفات نخرية ونزفية في مناطق لطخ باير واللوزات الأعورية وقد يلاحظ ضخامة في الطحال ونزف في التيموسية وفي مخاطية المعدة الغدية ويلاحظ نسيجياً: نخر في الأعضاء اللمفاوية وفي الكبد والبنكرياس والعضلة القلبية والتهاب الأكياس الهوائية وارتشاح لمفاوي، و يلاحظ استكفاف لمفاوي حول الأوعية الدموية في الدماغ كما يسبب فيروس مرض نيوكاسل نخر وتقرح في ظهارة الأمعاء (Miller and Koch. 2013, Meulemans et al. 2015, Kabiraj et al. 2020).

وجد (Rohollahzadeh et al. 2018) أنّ مرض نيوكاسل يسبب تكاثر لمفاوي Lymphoid proliferative في الغشاء المخاطي للأمعاء والرغامي. وافترض (Quan et al. 2013) أنّ اللمفاويات المتواجدة بين الخلايا الظهارية Intestinal intraepithelial lymphocytes والخلايا الكأسية و الخلايا المفرزة للغلوبولين المناعي IgA قد اشتركت في المناعة المخاطية المعوية ضد الخمج بفيروس مرض نيوكاسل.

تستخدم معظم البلدان اللقاحات الفيروسية الحية ضد فيروس مرض نيوكاسل المشتقة من العترات الفيروسية ضعيفة الضراوة ولكن هذه العترات حافظت على امراضية متغيرة ، لذلك تعتبر ردة فعل اللقاح محتومة واستخدمت العترات المُنسلة للحصول على تمنيع عالي وردة فعل لقاحية مقبولة (Al-garib et al. 2003).

ورغم أنّ العترات ضعيفة الضراوة لفيروس نيوكاسل لا تسبب النفوق وذات إمراضية ضعيفة إلا أنّ بعض الباحثين لاحظ تغيرات نسيجية مجهرية مهمة في الجهاز التنفسي أو في الجهاز الهضمي فقد وجد (Kotani et al. 1987) ضخامة في الخلايا الكأسية في مخاطية الرغامى وزوال أهداب الخلايا الظهارية وتوسفها وارتشاح للمفاويات والمستعيرات ثم سجل ردود الفعل التجديدية بعد اليوم الخامس من الخمج التجريبي بفيروس نيوكاسل الضعيف الضراوة.

أشار العديد من الباحثين (Ashley et al. 2013, Rehman et al. 2017) إلى أنّ الخلايا البدنية تشكل ذراعاً رئيسياً لجهاز المناعة الفطرية (الطبيعية) Innate immune system، ولها دور ثنائي في التنبيه لغزو العوامل الممرضة أولاً؛ وثانياً كخلايا منظمة خلال سير الالتهاب الحاد من البداية Initiation وحتى الانصراف<sup>1</sup> Resolution، حيث تعمل على تقليص الاستجابة المناعية في طور انصراف الالتهاب.

وبحسب (Mast et al. 2005) فإن لقاح لاسوتا أدى إلى ضخامة في الخلايا الكأسية وزيادة تأذيها وزيادة في تشكيل المخاط في الغشاء المخاطي للرغامى. وبموجب دراسة (Quan et al. 2009) اشتركت الخلايا البدنية في الاستجابة لفيروس مرض نيوكاسل وافترض وجود دور للخلايا البدنية في التغيرات المرضية التي يسببها فيروس مرض نيوكاسل فقد ازدادت الخلايا البدنية بشكل واضح خلال الخمج التجريبي لفيروس نيوكاسل الضاري في المعدة الغدية والعفج والصائم واللوزات الأعورية بعد 24 ساعة و48 و72 و96 من الخمج، بينما وجدت أعداد قليلة في أنسجة الشاهد وبشكل مثير للاهتمام كان العدد الأكبر للخلايا البدنية في المعدة الغدية. كما افترض (Graham et al. 2015) وجود دور بارز للخلايا البدنية في الأخماج الفيروسيّة المترافقة مع إمراض واضح للثوي.

أكد العديد من الباحثين أنّ اللقاح المحضر من عزولات محلية أعطى نتائج أفضل من لقاح لاسوتا في خفض الامراضية ونسبة النفوق (Bello et al. 2020)، كما توجد تأثيرات ايجابية للقاحات ضد مرض نيوكاسل اضافة للحماية من العترات المميتة للفيروس (NDV) كالمساهمة في تخفيف فقدان الوزن عند الطيور بشكل طفيف (Sasipreeyajan et al. 2012)؛ ومع ذلك توجد العديد من التأثيرات السلبية فقد أكد (Nakamura et al. 2014) أنه بالرغم من تطبيق اللقاحات ضد فيروس مرض نيوكاسل بكثافة لا زالت تحدث جوائح المرض، ومن جهة أخرى فإنّ التحصين غير المناسب يمكن أن يشترك في إحداث جائحة مرض نيوكاسل في الطيور المحصنة ويمكن أن يساعد في حدوث الأخماج الثانوية.

## 5- النتائج Results :

أولاً: قبل الذبح:

- لم تسجل أية أعراض مرضية ظاهرة على الطيور المحصنة أو في عينات الشاهد طوال مدة التجربة.

ثانياً: بعد الذبح:

أ- التغيرات التشريحية المرضية العيانية:

1- عينات الشاهد (المجموعة الأولى):

بدت سليمة طوال فترة التجربة ولم تبدي أية تغيرات تشريحية مرضية عيانية في كل المجموعات.

2- عينات الطيور المحصنة (المجموعة الثانية):

اقتصرت على ظهور بعض النقط النزفية (بحجم رأس الدبوس Pinpoint قطرها من 1-2 مم) على العفج في اثنين من الطيور بعد 48 ساعة وظهور احتقان خفيف للأوعية الدموية في منطقة محدودة من العفج الشكل رقم (1). وظهرت هذه

<sup>1</sup> المعجم الطبي الموحد (الخياط وزملاؤه. 1983).

النقط النزفية في بقية مجموعات الذبح عند 2-3 من الطيور (كل مجموعة مؤلفة من 5 طيور) في منطقة العفج والصائم حتى نهاية التجربة إنما بأعداد قليلة من 3-6 نقط.

#### ب - التغيرات التشريحية المرضية النسيجية المجهرية

1- عينات الشاهد (المجموعة الأولى):

- وجدت أعداد قليلة متفرقة من المستعيرات Heterophils واللمفاويات بين الخلايا الظهارية المعوية في العفج والصائم واللفائفي.

- لوحظت البلاعم اضافة للخلايا السابقة في الصفيحة المخصوصة المخاطية Lamina propria مع وجود بعض الخلايا البدينة Mast cells.

2- عينات الطيور المحصنة (المجموعة الثانية: قسمت إلى خمس مجموعات وذبح في كل مرة 5 طيور):

أ- بعد 2 ساعة:

وجد احتقان خفيف في الشعيرات الدموية في بعض مناطق الغشاء المخاطي الشكل رقم (2). لوحظ في ثلاث عينات زيادة واضحة للخلايا البدينة بالمقارنة مع الشاهد في بعض مناطق الصفيحة المخصوصة المخاطية.

ب- بعد 24 ساعة:

لوحظ ارتشاح خلوي من المستعيرات والخلايا البدينة في معظم العينات وغالباً بشكل بؤري محدود وبأعداد متفاوتة في الصفيحة المخصوصة الشكل رقم (3) والشكل رقم (4)، مع احتقان واضح في الشعيرات الدموية المخاطية. كما لوحظ توذم خفيف في بعض الزغابات Villi.

ت- بعد 48 ساعة:

ظهرت المستعيرات في بعض مناطق المعى الدقيق الشكل رقم (5)؛ فقد ارتشحت بشدة في الصفيحة المخصوصة المخاطية على امتداد عدة زغابات متجاورة أحياناً، بينما وجدت متفرقة وبشكل متفاوت في العينات المعوية للطير نفسه؛ كما وجدت الخلايا البدينة بشكل أوضح من اليوم السابق، مع ظهور احتقان خفيف للشعيرات الدموية. لوحظ زوال الزغيبات المعوية Microvilli ( الحافة الفرشائية) في بعض مناطق الغشاء المخاطي. سجلت هذه التغيرات في معظم العينات.

ث- بعد 96 ساعة:

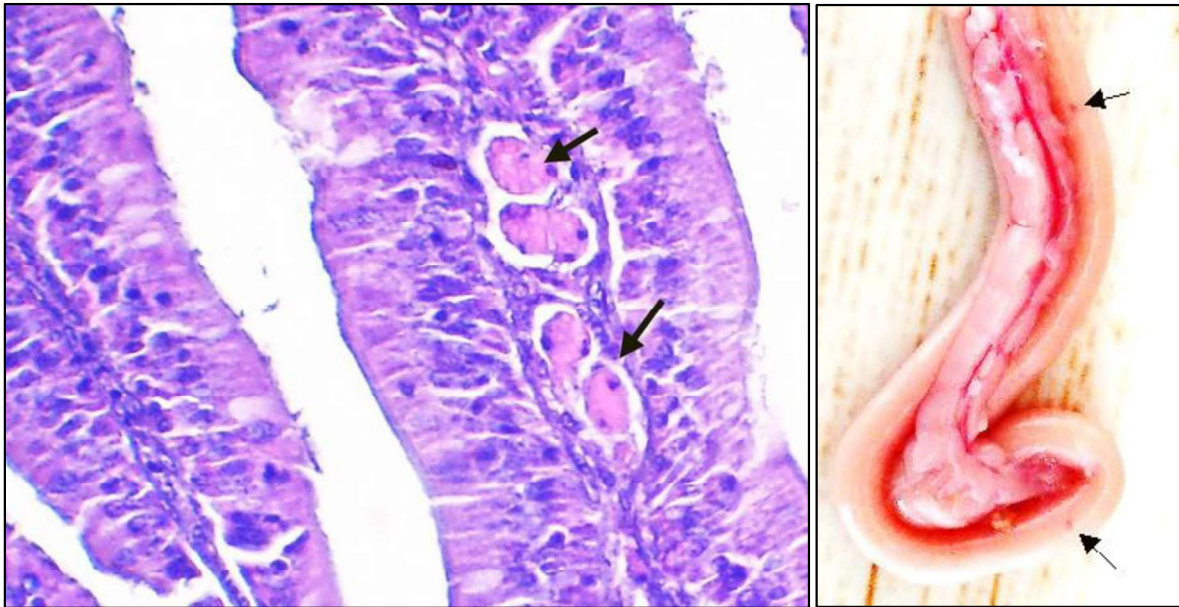
ازدادت اللمفاويات Lymphocytes والبلاعم Macrophages بشكل واضح في الصفيحة المخصوصة المخاطية الشكل رقم (6). ولوحظ نخر بؤري محدود في الخلايا الظهارية المعوية الشكل رقم (8). سجلت هذه التغيرات في جميع العينات.

ج- بعد 144 ساعة:

وجدت اللمفاويات والبلاعم بشكل غالب مع بعض الخلايا المصورية Plasma cells في معظم العينات. كما وجد في بعض العينات تجمعات للخلايا اللمفاوية في الصفيحة المخصوصة المخاطية مجاورة للغدد الخبيثة، كان بعض هذه اللمفاويات في مراحل نخر مختلفة الشكل رقم (7).

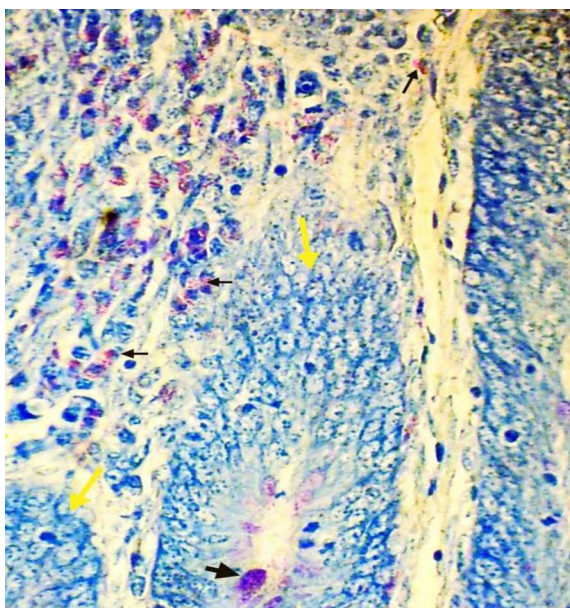
ح- تغيرات الخلايا الكأسية:

لوحظ تضخم Hypertrophy الخلايا الكأسية Goblet cells بعد 24 ساعة الشكل رقم (10)، وتخرّب بعضها في بقية المجموعات الشكل رقم (11). ولوحظ زيادة النشاط التكاثري (فرط تنسج Hyperplasia) للخلايا الظهارية والخلايا الكأسية في الخبايا المعوية Intestinal crypts في نهاية التجربة بعد 144 ساعة من التحصين في معظم العينات المدروسة الشكل رقم (9).

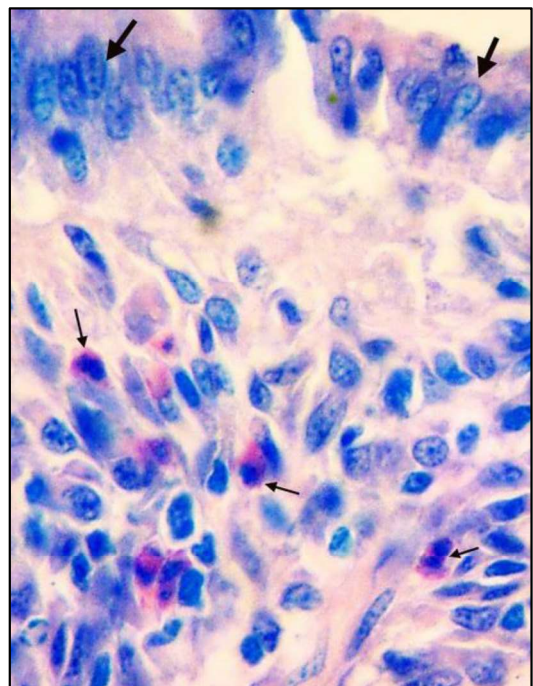


الشكل رقم (2)  $\times 40$  H&E: احتقان الأوعية الدموية في الزغابات المعوية (الأسهم)

الشكل رقم (1): نفض نزفية على الطبقة المصلية للعفج (الأسهم)

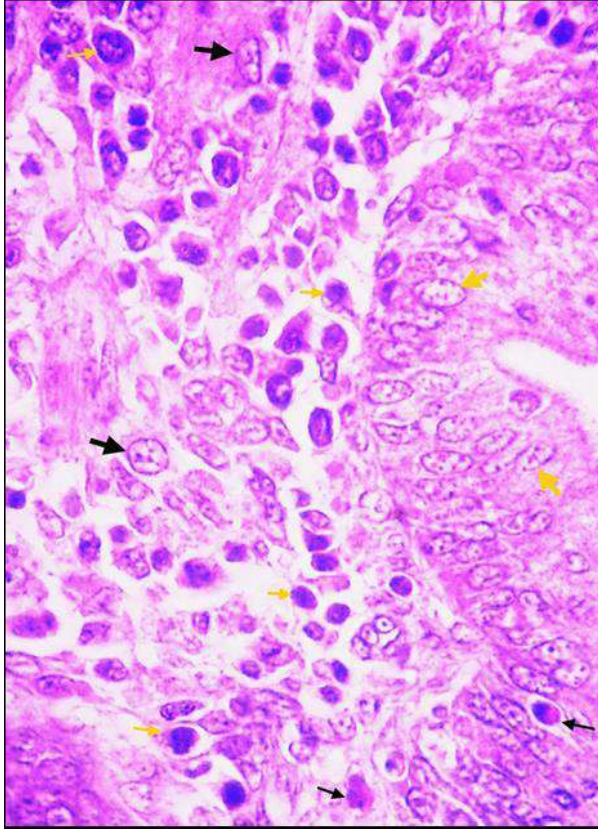


الشكل رقم (4)  $\times 40$  صبغة جيمسا: تظهر أعداد كبيرة من الخلايا البدنية (أسهم سوداء صغيرة). الخلايا المعوية (أسهم صفراء). خلية كاسية (سهم أسود كبير).

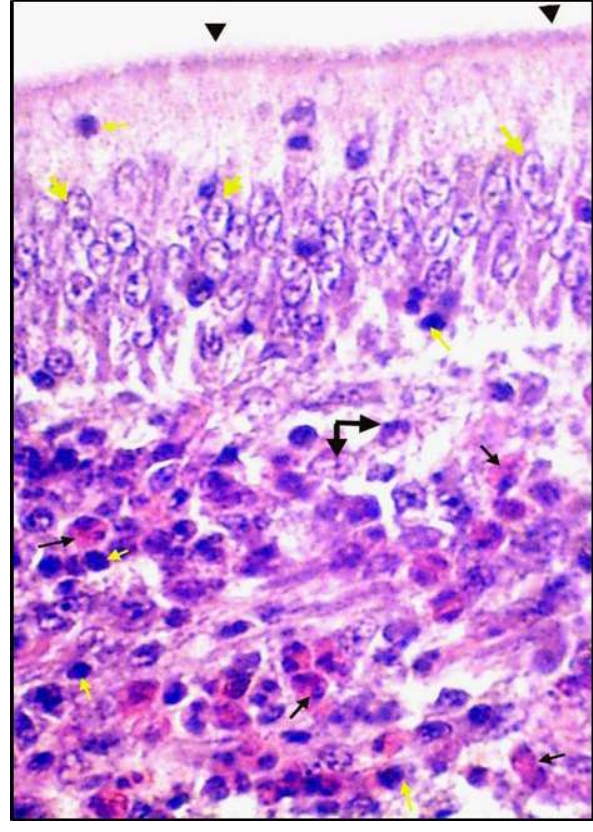


الشكل رقم (3)  $\times 100$  صبغة جيمسا: تظهر هيولى الخلايا البدنية بلون أحمر باستخدام (أسهم صغيرة). الخلايا المعوية (أسهم)

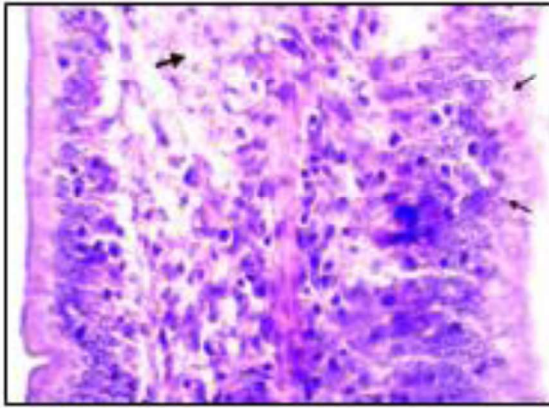




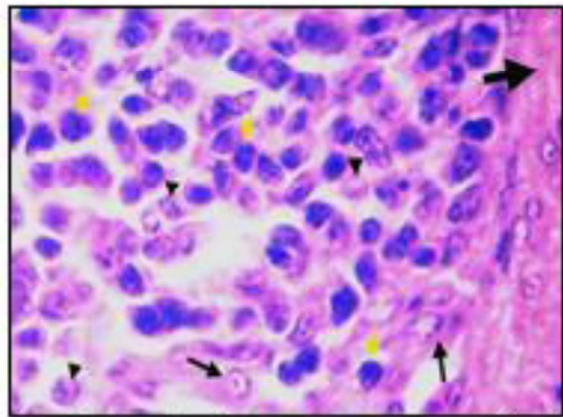
الشكل رقم (6)  $60\times$  H&E : خلايا بلعمية (سهم أسود كبير). خلايا لمفاوية (سهم أصفر صغير). خلايا مصورية (سهم أسود صغير). خلايا معوية (سهم أصفر كبير).



الشكل رقم (5)  $60\times$  H&E: مستغيرات (سهم أسود صغير). لمفاويات (سهم أصفر صغير). بلاعم (سهم أسود كبير). خلايا معوية (سهم أصفر كبير).

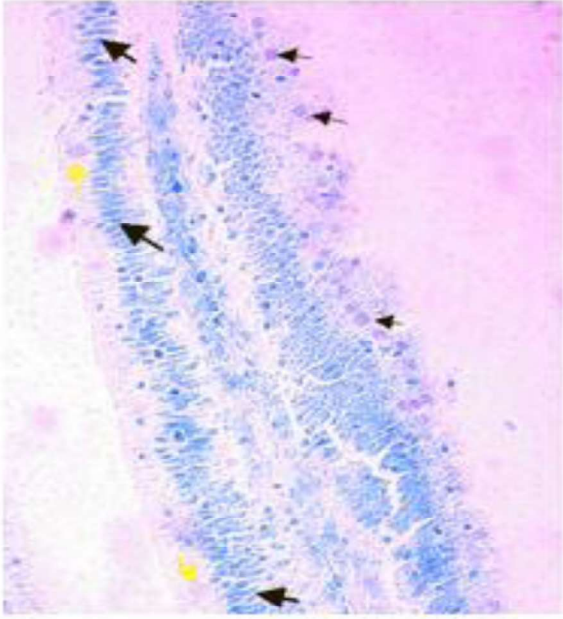


الشكل رقم (8)  $40\times$  H&E: نحر الخلايا المعوية (أسهم صغيرة).

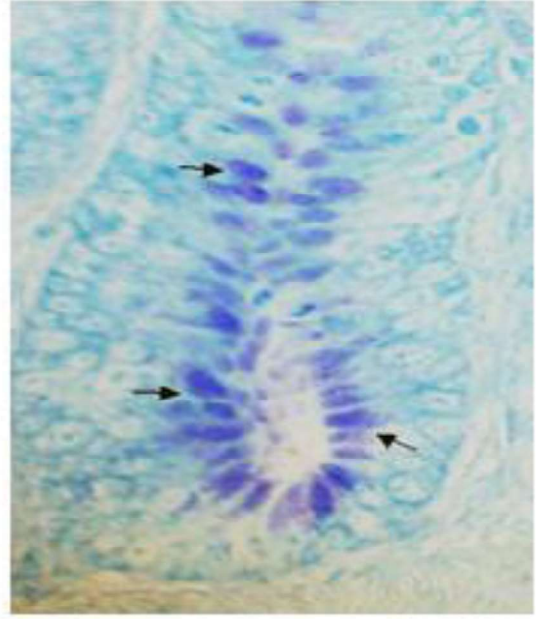


الشكل رقم (7)  $100\times$  H&E: نحر الخلايا للمفاوية (رؤوس الأسهم). خلايا لمفاوية (أسهم صفراء). خلايا بلعمية (أسهم سوداء صغيرة). العضلات المخاطية المعوية (سهم أسود كبير).

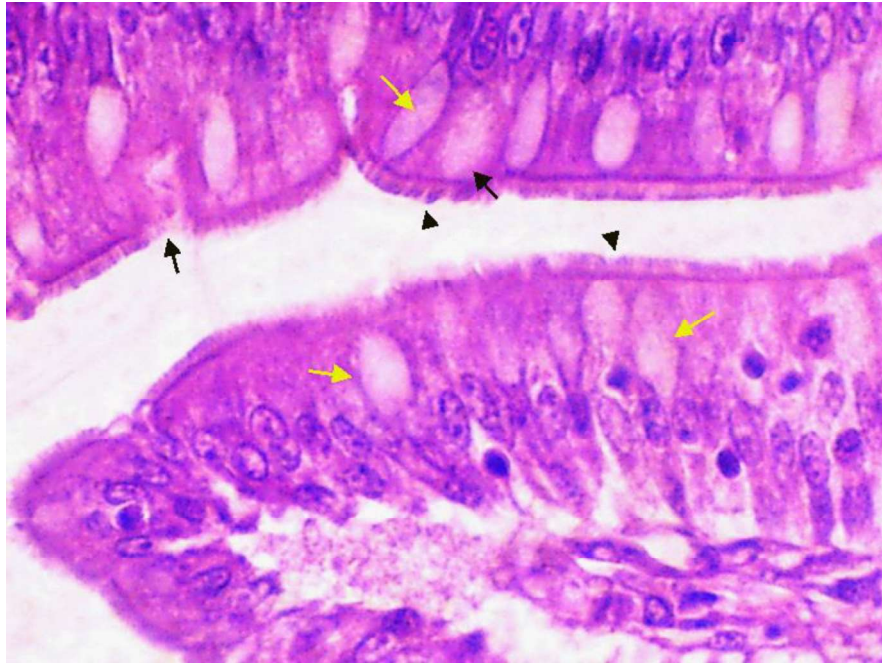




الشكل رقم (10)  $10\times$  صبغة جيمسا: تلاحظ الخلايا المعوية في الجانب السليم للزغابة (سهم أسود كبير) وخلايا كأسية (سهم أصفر). وفي الجانب الأخر خلايا كأسية أصغر حجما بالمقارنة مع الجانب السليم (سهم أسود صغير) ونخر الخلايا المعوية.



الشكل رقم (9)  $60\times$  صبغة جيمسا: فرط تنسج الخلايا الكأسية في الخبايا المعوية (سهم أسود).



الشكل رقم (11)  $60\times$  H&E: تضم الخلايا الكأسية (سهم أصفر). تخرب الخلايا الكأسية (سهم أسود). الزغيبات المعوية أو الحافة الفرشائية (رؤوس الأسهم).

## 6- المناقشة Discussion:

تستخدم اللقاحات ضد فيروس مرض نيوكاسل في سورية بكثافة وخاصةً اللقاحات ضعيفة الضراوة عن طريق ماء الشرب وتعد اللقاحات المنسلة *cloned strains* من أكثر اللقاحات المستخدمة؛ لهذا اختير هذا اللقاح كنموذج للقاحات الحية الضعيفة الضراوة لدراسة التغيرات المرضية وردود الفعل الانتهايبية على مستوى الغشاء المخاطي للمعي الدقيق التي يحدثها اللقاح.

تسعى الشركات المنتجة للقاحات لإنتاج لقاحات تعطي حماية عالية ضد الخمج بفيروس نيوكاسل مع تقليل ردود فعل اللقاحات السلبية إلى الحد الأدنى، ومع ذلك لا تزال تسجل كثير من ردود الفعل اللقاحية غير المرغوب بها ويمكن أن تكون كارثية في بعض الأحيان لأسباب مختلفة وقد يؤدي التحصين غير المناسب إلى حدوث جائحة مرضية (Nakamura et al. 2014)، إلا أن الجانب المهم هو عدم قدرة هذه اللقاحات في كثير من الأحيان على تحقيق الغاية المرجوة من استخدامها في الوقاية من المرض؛ حيث سجلت في العديد من البلدان جائحات لمرض نيوكاسل رغم الاستخدام المكثف للقاحات بأنواعها المختلفة (Bello et al. 2020, El-Mandrawy et Al. 2017). وبحسب المشاهدات الحقلية لوحظت مثل هذه الحالات في سورية حيث لم تجدي اللقاحات المختلفة نفعاً أمام ضراوة الفيروس، وهنا يجب التأكيد على أهمية تصنيف العزولات المحلية وتحضير اللقاحات بموجبها.

وفي هذه الدراسة لم تسجل أعراض مرضية عيانية واضحة على الطيور بعد التحصين بالعترة المنسلة (CL/79) أثناء التجربة. أما بالنسبة للتغيرات التشريحية المرضية العيانية بعد الذبح؛ ظهر في الأمعاء الدقيقة احتقان خفيف لدى بعض الطيور في العفج والصائم إضافة لظهور نقط نزفية قليلة على الطبقة المصلية بعد 48 ساعة من اللقاح، والتي بقيت قليلة العدد خلال فترة التجربة عند 2-3 من الطيور من 5 في كل المجموعات وظهرت حتى نهاية التجربة مع ازدياد حجمها قليلاً وبهتان لونها؛ وتعتبر هذه التغيرات المحدودة مؤشراً على النشاط الفيروسي وحدوث ردة فعل التهايبية في الغشاء المخاطي المعوي ويؤكد ذلك التغيرات النسيجية المجهرية المسجلة في هذه الدراسة، كما يمكن تفسير أن هذه التغيرات لم تظهر عند جميع الطيور بسبب العوامل الفردية من حيث المناعة وكمية الماء المتناولة وبالتالي الاختلاف في الجرعة الفيروسية اللقاحية، وربما يوجد دور للمناعة الأمية في ذلك من خلال كبح النشاط الفيروسي.

ترافقت التغيرات الوعائية مع تغيرات في الخلايا البدينة التي لوحظت بوضوح بعد 24 ساعة من اللقاح. تحرر الخلايا البدينة وسائط كيميائية كالهستامين الذي يزيد نفوذية الأوعية الدموية، والهيبارين الذي يعمل على منع تخثر الدم (Ackermann, 2017) وهذا يفسر ظهور التوذم في بعض الزغابات المعوية. لم تكن زيادة الخلايا البدينة منتشرة في الغشاء المخاطي إنما وجدت بعض البؤر ذات كثافة عالية مع أعداد أقل في بقية مناطق الصفيحة المخصصة المخاطية ولكن بأعداد أكبر مما هو موجود في عينة الشاهد على اعتبار أن هذه الخلايا موجودة بشكل طبيعي في النسيج الضام الرخو في الغشاء المخاطي المعوي ومصاحبة للأوعية الدموية غالباً أو متوضعة في الصفيحة المخصصة للأغشية المخاطية (Wheater et al. 1985, Bacha & Bacha, 2012).

تشابه الخلايا البدينة صبغياً ووظيفياً الخلايا القعدات الموجودة في الدم وتمتلك نفس خاصية التبدل اللوني *Metachromasia* للحيويات الموجودة في الهيولى لذلك لم يميز بعض الباحثين بينهما (Petrone, 2002)؛ ونحن نرجح هذه الفرضية بسبب سرعة ظهورها خلال ساعتين من التحصين في الصفيحة المخصصة المخاطية<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> نلتزم في هذه الدراسة تسمية الخلايا التي تبدي ظاهرة تفاعل التبدل اللوني من خلال صبغة جيمسا بالخلايا البدينة.

تؤكد المشاهدات المسجلة في هذه الدراسة أهمية دور الخلايا البدينة في الاستجابة المناعية الأولية لفيروس اللقاح المستخدم، فقد وضّح العديد من الباحثين (Ashley et al. 2013, Rehman et al. 2017) أهمية الخلايا البدينة في الاستجابة المناعية الفطرية وتنظيمها ومقدرتها الكبيرة على التحديد الأول لوجود العوامل الممرضة ومن ثم اطلاق عملية التخلص منها، وهذا قد يفسر ظهور الخلايا البدينة بسرعة بعد 2 ساعة من التحصين في هذه الدراسة. كما تأكدت أهمية الخلايا البدينة خلال الخمج بفيروس نيوكاسل الضاري (Graham et al. 2015, Quan et al. 2009).

ترافقت زيادة عدد الخلايا البدينة مع زيادة المستعمرات، وقد تكون جذبت بتأثير التخرب في الزغيبات للخلايا المعوية في بعض مناطق الغشاء المخاطي وبعض التخرب الخلوي المحدود. يعتبر كثير من الباحثين أنّ المستعمرات مماثلة للعدلات عند الثدييات وظيفياً (Sturkie & Griminger, 1986, Scanes, 2015)، ويشير (Montali, 1988) إلى أنّ المستعمرات تصبغ بالأيزون مثل الحمضات، لذلك يستخدم مصطلح حامضي Acidophilic لكليهما. لكن (Lam, 1997) لم يفصل بين المستعمرات والحمضات، واعتبر أنّ مثل هذه التفاعلات موافقة للحمضات. ورغم هذا الخلاف في الأدب العلمي نعتقد أنّ التشابه الصباغي بين الحمضات والمستعمرات بغض النظر عن الاختلافات الشكلية المحدودة و شكل الحبيبات الهيولية في كليهما يفترض بعض التشابه في التركيب الكيميائي وبالتالي يمكن أن يوجد تشابه وظيفي بين المستعمرات والحمضات عند الطيور<sup>1</sup>.

إنّ زوال الزغيبات للخلايا المعوية والنخر الخلوي المحدود المسجل في هذه الدراسة بفعل نشاط فيروس اللقاح؛ يضعف الغشاء المخاطي المعوي ولو كان محدوداً، وهذا أحد ردود الفعل السلبية للقاحات التي قد تؤدي إلى حدوث أخماج ثانوية.

ترافقت هذه التغيرات مع تضخم الخلايا الكأسية التي صبغت بصبغة جيمسا بلون أرجواني على طول الزغابات المعوية بينما صبغت الخلايا الكأسية الفتية بلون أزرق في الخبايا المعوية؛ ويمكن تفسير ذلك بتغير تركيب محتوى الخلايا الكأسية من المواد المخاطية خلال هجرة الخلايا من قاعدة الزغابة إلى قمتها وهنا تكون أكثر نضوجاً. يعتبر تضخم الخلايا الكأسية مؤشراً على زيادة نشاطها الإفرازي ومشاركتها في ردة الفعل المناعية المبكرة غير النوعية ضد فيروس نيوكاسل الحي المضعف المستخدم في هذا اللقاح. لوحظت مثل هذه التغيرات في مخاطية الرغامى عند الخمج التجريبي بالعترات ضعيفة الضراوة أو عند استخدام لقاح عترة لاسوتا (Mast et al. 2015, Kotani et al. 1987)، كما أكد (Quan et al. 2013) أهمية الخلايا الكأسية في المناعة للأغشية المخاطية المعوية خلال الخمج بالفيروس الضاري لمرض نيوكاسل.

ولوحظ في المراحل اللاحقة زيادة واضحة في اللمفاويات والبلاعم وبعض المصورات لتصبح هذه الخلايا هي السائدة بعد 144 ساعة من اللقاح، علماً أنه وجدت الخلايا اللمفاوية والمستعمرات بشكل خاص بين الخلايا الظهارية المخاطية لعينات الشاهد بأعداد قليلة والتي يرجح أنّ أهميتها بإصدار الإنذار الأولي عند تعرض الغشاء المخاطي للمستضدات.

إن ردة الفعل الالتهابية المسجلة في هذه الدراسة بما فيها الخلايا البدينة تندرج ضمن المناعة الطبيعية الفطرية عند التعرض الأول للمستضد، أما عند التعرض الثاني للمستضد تحدث ردة فعل مناعية نوعية تكون فيها استجابة اللمفاويات والمصورات مبكرة وأكثر شدة قادرة على كبح غزو الفيروس لخلايا الجسم سواء عبر المناعة الخلطية Humoral immunity المعتمدة على اللمفاويات البائية والمصورات لإنتاج الاضداد أو على المناعة المتواسطة بالخلايا Cell-mediated immunity المعتمدة على اللمفاويات التائية بالدرجة الأولى؛ وهنا تكمن أهمية التحصين عن طريق ماء الشرب حيث يفترض أنها تعزز المناعة الموضوعية في الغشاء المخاطي المعوي الذي يعتبر أحد بوابات العدوى الرئيسية للمرض. وقد أشار عدد من الباحثين

<sup>1</sup> نظراً للتشابه الصباغي بين المستعمرات والحمضات، وكثرة المستعمرات بالمقارنة مع الحمضات عند الطيور؛ نلتزم في هذه الدراسة تسمية جميع الخلايا المفصصة المحببة التي صبغت هيولاهما بالأيزون باللون الأحمر بالمستعمرات.

إلى أهمية اللقاحات في الاستجابة المناعية للفيروس الضاري لمرض نيوكاسل (Quan et al. 2013, Rohollahzadeh et al. 2018).

ونعتقد أنه لا يمكن أن يكون أي لقاح فعال بدون تفاعل نسيجي يسبب ردة فعل مناعية؛ على اعتبار أن اللقاحات هي فيروسات حية مضعفة (مؤنّنة) <sup>1</sup> live attenuated virus<sup>2</sup> وهي مستضدات يجب أن يتعرف عليها الجسم ليحدث ردة فعل التهابية مناعية بحيث تمكن الخلايا اللقاحية من التفاعل مع هذا المستضدات وتكون خلايا ذاكرة خاصة للاستجابة المناعية النوعية عند التعرض التالي لهذا المستضد. واعتبر بعض الباحثين أن ردة الفعل للقاحية محتومة لذلك استخدمت العترة المنسلة للحصول على تمنيع عالي وردة فعل لقاحية مقبولة (Al-garib et al. 2003).

#### 7- الاستنتاجات **Conclusions**:

1- أحدث اللقاح الحي المشتق من عترة ضعيفة الضراوة لفيروس مرض نيوكاسل (العترة المنسلة) تغيرات وعائية ونسجية محدودة كزوال الزغيبات من الخلايا الظهارية وتضخم الخلايا الكأسية وتخرب بعضها. وهذا له جانب ايجابي يمكن من تكوين ردة فعل مناعية جيدة عند التعرض الثاني للمستضد، وجانب سلبي كونه يضعف الغشاء المخاطي المعوي مؤقتاً قد يتبعه خمج ثانوي.

2- تحدث ردة فعل التهابية مبكرة من المستغيرات والخلايا البدينة عند التعرض الأول للقاح المستخدم والتي تندرج ضمن المناعة اللانوعية؛ بينما زادت اللقاحات بكثافة بشكل متأخر والتي تعتبر مسؤولة عن المناعة الخلطية أو المناعة المتواسطة بالخلايا.

#### 8- التوصيات **Recommendations**:

من خلال نتائج هذا البحث والدراسة المرجعية نؤكد على ما يلي:

1- ضرورة تحصين القطعان السليمة فقط بسبب التغيرات الحادثة في الغشاء المخاطي المعوي، وعلى ضرورة اتباع الطرق السليمة في التحصين تجنباً لتحريض ردود فعل لقاحية شديدة غير مرغوبة.

2- لا بد من اجراء الدراسات لفهم أعمق للمناعة في الأغشية المخاطية وخاصة على مستوى المناعة الخلوية؛ مما قد يسهم في تطوير لقاحات أكثر فعالية ضد فيروس مرض نيوكاسل.

#### 9- المراجع العربية:

1- الخياط، محمد ومجموعة من المؤلفين. المعجم الطبي الموحد (1983). 760 صفحة

#### References:

- 1) Ackermann, M.R., (2017). Inflammation and Healing. In: Pathologic Basis Of Veterinary Disease. edited by Zachary, J. F., editor. 6th edition. Elsevier, Printed in China, P: 73–131
- 2) Al-Garib, J.A., Gielkens, .L.J., Gruys, E. And Och,V. (2003). Review of Newcastle disease virus with particular references to immunity and Vaccination. World's Poultry Science Association, 59 June: 185–200

<sup>1</sup> attenuated: مؤنّنة: حسب المعجم الطبي الموحد (الخياط وزملاؤه. 1983).

<sup>2</sup> Attenuated: having undergone a process of attenuation (Studdert et al. 2012)

- 3) Ashley, L., John S. t., and Soman N. A.,(2013). Innate Immunity and Its Regulation by Mast Cells . The Journal of Immunology, 190: 4458–4463.
- 4) Bacha,W. J., and Bacha, L.M., (2012). Color atlas of veterinary histology, 3rd ed. P :358
- 5) Bello, M.B., Mahamud , A., Yuso K., Ideris A., Hair–Bejo M., Ben P.H., Peeters, and Omar, A.R., (2020). Development of an E\_ective and Stable Genotype–Matched Live Attenuated Newcastle Disease Virus Vaccine Based on a Novel Naturally Recombinant Malaysian Isolate Using Reverse Genetics. Vaccines, (8): 270
- 6) Darrell, R., Kapczynski, C.L., Patti, A., and Miller, J., (2013). Immune responses of poultry to Newcastle disease virus. Developmental & Comparative Immunology, 41(3): 447–453.
- 7) Dewitt, R.C., and Kudsk, K.A., (1999). The Gut's Role In Metabolism, Mucosal Barrier Function, And Gut Immunology. By Infectious Disease Clinics Of North America, 13 (2): 465
- 8) El–Mandrawy, S. and Ismail, S., (2017). Selective Hematological, Biochemical and Pathological Alterations of Newcastle Virus in Naturally Infected and Vaccinated Broilers in Damietta Governorate of Egypt. Bulletin UASVM Veterinary Medicine, 74(2): 139–148
- 9) Graham, A.C., Rachel, M. T., and Obar, J.J., (2015). Mast cells and influenza A virus. association with allergic responses and beyond. Frontiers in Immunology, Volume 6 Article 238
- 10) Hipra, (2019) the poultry site. Cloned vaccines against Newcastle disease virus, heterologous protection against genotypes VII a XII. by 5m Editor 8 January
- 11) Kabiraj, C.K., Mumu, T.T., howdhury, E.H., Islam, M.R., and Nooruzzaman, M., (2020). Sequential Pathology of a Genotype XIII Newcastle Disease Virus from Bangladesh in Chickens on Experimental Infection. Pathogens, 9(7): 539
- 12) Kotani, T., Odagiri, Y., Nakamura., J., and Horiuchi, T., (1987). Pathological Changes of Tracheal Mucosa in Chickens Infected with Lentogenic Newcastle Disease. AVIAN DISEASES, 31:491–497
- 13) Lam, K.M., (1997). Myeloperoxidase activity in chicken heterophils and adherent cells. Veterinary Immunology and Immunopathology, 57: 327–335.
- 14) Mast, J., Nanbru, C., Van Den Berg, T., And Meulemans, G.,(2015). Ultrastructural Changes of the Tracheal Epithelium after accination of Day–Old Chickens with the La Sota Strain of Newcastle Disease Virus. Vet Pathol, 42(5):559-65



- 15) Meulemans, G., Rauw, F., & van den Berg, T., (2015). Newcastle Disease & Other Avian Paramyxoviruses. In: Manual of poultry diseases, P: 145–155.
- 16) Miller, P.J., and Koch G., (2013). Newcastle Disease. In: Diseases of Poultry, edited by David E. Swayne, P: 89–138.
- 17) Montali, R.J., (1988). Comparative pathology of inflammation in the higher vertebrates (Reptiles, Birds and Mammals). Journal of Comparative pathology, 99:1–26.
- 18) Nakamura, K., Ito, M., Nakamura, T., Yamamoto, Y., Yamada, M., Mase M., and IMA, K.,(2014). Pathogenesis of Newcastle Disease in Vaccinated Chickens: Pathogenicity of Isolated Virus and Vaccine Effect on Challenge of Its Virus. J. Vet. Med. Sci, 76(1): 31–36
- 19) Petrone, V.M., Constantino, C.F., and Pradal–Roa P., (2002). Identification and quantification of granulocytes in caecal mucosa and submucosa of chickens experimentally infected with Eimeria tenella and Salmonella enteritidis. Br Poult Sci., 43(5):653–61.
- 20) Quan, S., Decheng, W., Ruiping, S., and li, W., (2009). Increased mast cell density during the infection with velogenic Newcastle disease virus in chickens. Avian Pathology, 37(6):579–85
- 21) Quan, S., Yunlian, S., Ruiping, S., Taozhen, J., Decheng, W., Ye D., & Jun Y., (2013). Detection of intestinal intraepithelial lymphocytes, goblet cells and secretory IgA in the intestinal mucosa during Newcastle disease virus infection. Avian Pathology, 42(6):541–545
- 22) Rehman Z.U., Meng, C., Umar, S., and Mahrose, K.M., (2017). Mast Cells And Innate Immunity: Master Troupes Of The Avian Immune System. World's Poultry Science Association, 73(3) : 621–632
- 23) Rohollahzadeh, H., Nili H., Asasi, K., Mokhayeri, S., & Asl Najjari A. H.,(2018). Respiratory and GIT tract immune responses of broiler chickens following experimental infection with Newcastle disease's virus. Comparative Clinical Pathology, 27:1241–1255
- 24) Sasipreeyajan, J., Tawatchai, P., and Nida, S., (2012). Efficacy of Different Vaccination Programs against Newcastle Disease: Virus Challenge in Broiler Chickens. Vet Med, 42(4): 431–437
- 25) Scanes C.G., (2015). Organ Systems Theme. In: Sturkie's Avian Physiology 6<sup>th</sup> edition, Editor Colin G. Scanes, Elsevier Printed and bound in China. P: 165–419

- 26) Studdert, V.P., Gay, C.C., and Blood, D.C., (2012). Saunders Comprehensive Veterinary Dictionary, 4TH EDITION. Elsevier Printed and bound in United States of America. P: 1340
- 27) Sturkie, P.D., and Griminger, P., (1986). Body fluid: blood. in: Avian physiology. (New York, Springer-Verlag) 4<sup>th</sup> edition Sturkie, P.D. editor. PP. 102–121.
- 28) Wheater, P.W., George, H.B., Victor, G.D., and Philip, J.D., (1985). Functional Histology. Printed in great Britain by Jarrold and Sons Ltd, Norwich. P: 278