AF ۲۸۰

مطالعه درمانگاهی و آسیب شناسی بیماری طاعون نشخوارکنندگان کوچک (PPR) و جداسازی ویروس عامل بیماری در ایران

● دکتر روحانی کارگر ● دکتر پرویز اهورائی ● دکتر محمد حسامی ● دکتر کمال‌الدین خدمتی ● دکتر محمدرضا غلامی، اعضاء هیأت علمی مؤسسه تحقیقاتی رازی
● دکتر احمد کاظمی، کارشناس ارشد سازمان دامپزشکی کشور

مقدمه

طاعون نشخوارکنندگان کوچک Peste de petits ruminants=PPR) همانند طاعون گاوی یک بیماری مسری حاد یا تحت حاد ویروسی در گوسفند و بز است که بوسیله تب، التهاب مخاط دهان همراه با زخمهای سطحی، التهاب روده باریک، پنومونی، اسهال و مرگ شناخته می‌شود (۱). در مناطقی که بیماری به صورت اپی‌زئوسی وجود دارد می‌تواند ضایعات اسفباری را بوجود آورد بطوری که میزان ابتلاء تا ۹۰٪ و مرگ ومیر ممکن است تا ۸۰٪ برسد (۲). در مناطقی که بیماری بومی است (آنزوئوتیک) کمتر سبب تلفات شده و بیشتر بصورت فرمهای خفیف و پنهانی مشاهده می‌گردد (۳). گوسفند کمتر از بز به این بیماری حساس است و گاو فقط به شکل تحت حاد درمانگاهی مبتلا می‌گردد (۴).

بیماری PPR اولین بار در سال ۱۹۳۶ توسط Gargadennec, Lalane در سواحل عاج گزارش شده است (۵) ولی با توجه به مقاله Gurasson احتمالاً این بیماری در سال ۱۸۷۱ در سنگال و در سال ۱۹۲۷ در گینه فرانسه وجود داشته است (۶).

در حال حاضر بیماری در آفریقا و شبه جزیره عربی بطور گسترده مشاهده می‌شود و در خیلی از این کشورها علاوه بر ردپای سرمی (وجود پادتن اختصاصی PPR در سرم خون گوسفند و بز) ویروس عامل بیماری نیز جداسازی شده است (۶).

ویروس عامل بیماری از نظر آنتی‌ژنی شباهت زیادی به ویروس طاعون گاوی دارد، بطوری که در آزمایش رسوب در ژل[1] (AGID) و ثبوت عناصر مکمل[2] (CF) تقریباً غیرقابل تفکیک می‌باشد. ولی در آزمایش خنثی سازی سرم[3] (SN) با بالا رفتن رقت سرم از یکدیگر تمیز داده می‌شوند بطوری که سرم خون دام مبتلا به PPR در رقت $\frac{1}{2}$ قادر به خنثی سازی TCID 50[4] ۱۰۰ ویروس طاعون گاوی می‌باشد ولی اگر رقت سرم $\frac{1}{10}$ و بالاتر برده شود دیگر قادر نخواهد بود که این مقدار ویروس طاعون گاوی را خنثی نماید.

در ابتدا تصور می‌شد که ویروس سویه‌ای از ویروس طاعون گاوی است که به گوسفند و بز عادت کرده است. این فرضیه تقویت می‌شد زیرا که در بعضی کشورها مانند هندوستان از سویه‌های عادت داده شده به بز برای واکسیناسیون علیه طاعون گاوی استفاده می‌شود، بدین ترتیب ویروس به نشخوارکنندگان کوچک عادت کرده و به تدریج برای ایندسته از حیوانات بیماریزا شده است.

اولین بار حمدی در سال ۱۹۷۶ در انستیتو پلوم ایلندنیویورک توانست ویروس PPR راکاملاً متفاوت از

عکس شماره ۱

عکس شماره ۲

ویروس طاعون گاوی (RPV) نشان بدهد و بدین ترتیب این ویروس به عنوان چهارمین جزء از موربیلی ویروسها معرفی شد.

جنس موربیلی ویروس که جزء خانواده پارامیکسو ویروسهاست و تفاوت آن با سایر پارامیکسو ویروسها در نداشتن نورآمینیداز است شامل ۴ ویروس سرخک، طاعون گاوی، ژوناژسگ و بالاخره PPR می‌باشد (۷).

بخشهای تشخیص و تحقیق بیماریهای ویروسی و آسیب شناسی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی از چند سال قبل به اشاعه و گسترش بیماری طاعون نشخوارکنندگان کوچک توجه داشته‌اند و به همین دلیل متعاقب گزارشی که در سال ۱۹۸۰ بوسیله Hedger و همکاران (۸) مبنی بر وجود بیماری در سلطان نشین عمان ارائه دادند خطر ابتلاء جمعیت ۷۰ میلیونی گوسفند و بز ایران را به بیماری پیش‌بینی نمودند. بهمین دلیل طی سالهای ۱۳۶۷ تا ۱۳۷۰ اقدام به یک بررسی همه جانبه سرولوژی در بین گوسفند و بز نواحی مختلف کشور کردند که نتایج آن در مجله آرشیو مؤسسه رازی شماره ۴۴ و ۴۵ سال ۱۳۷۳ به چاپ رسیده است (۹).

در سال ۱۳۷۳ نیز بدنبال گزارش سازمان دامپزشکی کشور مبنی بر مشاهده موارد مشکوک بیماری PPR در گوسفند و بز در استان ایلام با اعزام تیم کارشناسی و مشاهده نشانیها و عوارض درمانگاهی بیماران و برداشت نمونه و انجام آزمایشهای لازم در مؤسسه رازی اقدام به جداسازی عامل بیماری و شناسائی و تأئید آن گردید. بلافاصله با اجرای تدابیر ریشه‌کنی و کنترل، بیماری در منطقه مهارو تاکنون گزارش مجددی از آن دریافت نشده است و این مقاله شرح این تلاش و کوشش همه جانبه می‌باشد.

مواد و روش کار

در خرداد سال ۱۳۷۳ از سازمان دامپزشکی کشور اطلاع داده شد که بیماری شبیه به PPR در بین گله‌های گوسفند و بز منطقه ایلام شیوع یافته است. بلافاصله تیم کارشناسی از سازمان دامپزشکی و مؤسسه رازی به منطقه عزیمت نمودند.

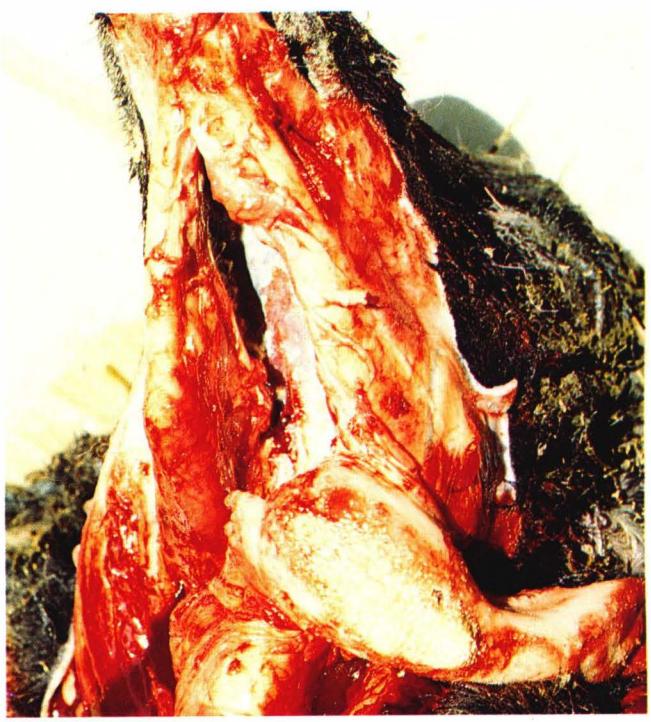
با بازدید گله‌های گوسفند و بز که بیماری در بین آنها وجود داشت مشخص گردید که در پنج گله با جمعیت ۲۵۰۰ رأس گوسفند و ۳۰۰ رأس بز ده تا سی درصد حیوانات بیمار می‌باشند. حیوانات بیمار اعم از گوسفند یا بز دچار تب ۴۱/۵ - ۴۱ درجه سانتی‌گراد، بی‌اشتهائی، ریزش اشک، ریزش ترشحات بینی (عکس ۱) اختلالات سیستم تنفسی و تنگی نفس همراه با رال‌های تنفسی، زخمهای لثه و سطح خلفی زبان (عکس ۲ و ۳)،اسهال (عکس۴)، پرخونی روده‌ها (عکس ۵) و تورم و بزرگ شدن عقده‌های لنفاوی مخصوصاً پلاکهای پایرو عقده‌های مزانتر، پرخونی و ادم ریه‌ها بودند.

۳۰ درصد بیماران و ۵ درصد کل گله‌ها تا روز بازدید تلف شده بودند. یک رأس بز و یک رأس گوسفند که به شدت عوارض یاد شده را نشان می‌دادند ذبح گردند و به همراه یک رأس گوسفند تازه تلف شده مورد کالبدگشائی سیستماتیک قرار گرفتند. نمونه‌های لازم جهت بررسیهای باکتری شناسی، ویروس شناسی و آسیب شناسی برداشت و به مؤسسه رازی انتقال یافت. در مؤسسه رازی در آزمایش باکتری شناسی از نمونه مغز استخوان هیچگونه باکتری بیماریزا جدا نگردید. از نمونه‌های برداشتی در محلول فرمالین ۱۰٪ مقاطع لازم تهیه و پس از عمل آوری در پارافین بلوک گیری و برشهای ۶ میکرونی تهیه و به روش هماتوکسیلین ائوزین رنگ آمیزی گردید. در مشاهده میکروسکوپی هیپرپلازی و پرخونی عقده‌های لنفاوی، در پالایش، سلولهای لنفاوی تک هسته‌ای همراه با پرخونی و خونریزی در مخاط روده، و پرخونی و در پالایش سلولهای آماسی در نسج بینابینی ریه مهمترین ضایعه آسیب شناسی بود که جلب توجه می‌نمود. در آزمایشگاه ویروس شناسی نمونه‌ها به دو قسمت تقسیم شدند. از یک قسمت صلایه تهیه و در اصطبل ایزوله به ۷ سر بز حساس در مقابل ویروس طاعون گاوی به هر کدام ۱ سی‌سی زیر جلد تزریق گردید. از روز چهارم بعد از تزریق تمام حیوانات مورد آزمایش دچار تب شدید (۴۱/۷-۴۱/۵) شده، در روز ششم بعد از تزریق ریزش اشک و زخم لثه و پوزه در آنها جلب توجه نمود. در روز نهم بعد از تزریق در ۲ رأس بز و ۵ رأس گوسفند اسهال آبکی و شدید مشاهده گردید که از این گروه در روز یازدهم پس از تزریق یک رأس بره و یک رأس بزغاله تلف گردیدند. دو رأس بز و گوسفند تلف شده کالبدگشائی گردید و تمام عوارض ذکر شده در بالا در لاشه آنها مشاهده شد. عقده‌های لنفاوی این دو رأس جهت آزمایشات بعدی برداشت گردید.

از نمونه‌های سری دوم که شامل بافی کُت (Buffy coat) و صلایه عقده لنفاوی بود روی کشت سلول کلیه گوساله برده شد. و در روز نوزدهم بعد از آلودگی آثار ضایعات سلولی (CPE)[5] شروع و در طی ۷۲ ساعت به حداکثر خود رسید.

ویروس جداشده طی ۵ پاساژ مکرر روی سلول EBKL به آن عادت کرده بطوری که در پاساژ پنجم CPE در روز هفتم مشاهده شد. همزمان آثار سایتوپتیک ویروس روی Lighten tube و سلول EBLKL مطالعه

عکس شماره ۳



عکس شماره ۴

گردید به طوری که با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین گنجیدگی‌های ائوزینوفیلیک در داخل سیتوپلاسم سلولها مشاهده شد.

از نمونه عقده‌های لنفاوی و ویروس کشت سلولی در حالت لیوفلیزه جهت تعیین هویت ویروس به کشور فرانسه مرکز دامپزشکی آلفور ارسال گردیده که نتیجه آزمایش PCR[6] بر روی عقده‌های لنفاوی ارسالی تأئید وجود ویروس PPR بود. هم زمان با انجام آزمایشهای ویروس شناسی از گله‌های آلوده و بهبود یافته منطقه ایلام خونگیری و سرمهای جدا شده در رقتهای $\frac{1}{2}$ و $\frac{1}{10}$ و $\frac{1}{20}$ و $\frac{1}{40}$ و $\frac{1}{80}$ در مقابل ویروس طاعون گاوی (سویه پلورایت) و ویروس PPR (ویروس جدا شده در بخش) مورد آزمایش سرونوترالیزاسیون قرار گرفت. سرم دامهای شفا یافته از بیماری در رقت $\frac{1}{40}$ قادر به خنثی سازی ویروس طاعون گاوی بودند. در حالی که معدودی از این سرمها در رقت $\frac{1}{2}$ قادر به خنثی سازی ویروس طاعون گاوی بودند.

با مشخص شدن نتایج اولیه با اقدام سریع کلیه حیوانات بیمار معدوم و با آهک در عمق زمین دفن شدند و کلیه گله‌های گوسفند و بز مجاور با یک دوز واکسن طاعون گاوی سویه پلورایت واکسینه گردیدند با این کار و با گذشت یکسال گزارش جدیدی از بروز بیماری در منطقه دریافت نشده است.

بحث و نتیجه گیری

با توجه به وجود آلودگی بیماری PPR در گله‌های مناطق همسایه کشورمان و سهولت رفت و آمد مرزی حیوانات، امکان ورود حیوان بیمار از نواحی مجاور به گله‌های گوسفند و بز در نواحی غربی کشور را بایستی محتمل دانست.

نظر به اینکه ویروس PPR از نظر پادگنی با ویروس طاعون گاوی قرابت نزدیک دارد. بنابراین بنظر می‌رسد که اقدام سریع معدوم نمودن حیوانات بیمار و واکسیناسیون گله‌های گوسفند و بز موجود در کانون بیماری و اطراف آن علیه طاعون گاوی در کنترل و ریشه کنی بیماری در منطقه مؤثر بوده است. نوع ویروس تأئید شده توسط مرکز دامپزشکی آلفور فرانسه ویروس PPR می‌باشد که از مراکز عمان و کشورهای همسایه نیز گزارش شده است. بنابراین شایسته است همواره دامپزشکان در مناطق مرزی متوجه این امر باشند که امکان دارد بیماری شایعه در کشورهای مجاور به داخل مملکت نفوذ نماید.

بنابراین با آگاهی و شناخت ضایعات و عوارض بیماریهای غیربومی بایستی همواره هر نوع بیماری جدید یا همه‌گیری غیر متعارفی را مدنظر قرار داده و موضوع را به سازمان دامپزشکی کشور و مراکز تشخیص گزارش نمایند تا با اقدامات سریع و دقیق جلوی گسترش بیماری تازه وارد و غیر بومی به مملکت گرفته شود و از خسارات اقتصادی پیش‌بینی نشده جلوگیری به عمل آید.

پاورقی

1- Agar Gel immuno diffusion test
2- Complement fixation test
3- Sero neutralization test
4- 100 tissue culture infectious dose
5- Cytopathic effect
6- Polymerase Chain Reaction

منابع مورد استفاده

1- Lefevre, P.C., 1987, IENVT publication. Institute Elevaye et medecine veterinaire des pays Tropicaus. publication No.5
2- T.U.obi, M.O.OJO et. al., 1983,. Trop. veterinarian 1:209-217
3- Pavl, E, et al., 1979, Inter virology II:268-274
4- Appel, M.J.G: et al, 1981, Comparative diagnosis of viral disease, vo14 (Academic press, New york)
5- Asmar, J.A et al, 1980, Ann. meet. Saudi Arabian soc
6- Taylor, WP., 1984, prev. Vet. Med,2:157-166
7- Hag Ali et al, 1984, Res vet sci 36:1-4
8- Hedger, R.S. et al, 1980, Tropical animal health and production 12! 107-114
9- Hessami, M. et al, 1994, Arch Inst. Razi 44145 14-23

عکس شماره ۵

ش۲۸/پ۷۴