فهرست مطالب

پایدارکننده‌های واکسن: انواع، کاربرد، مکانیسم اثر
• زهرا برادران سید و لیلا پیشرفت ثابت ۲
فرآورده‌های بیولوژیک حاصل از حیوانات آزمایشگاهی (تولیدی مؤسسه رازی) و موارد کاربرد آن‌ها
• روزبه فلاحی و مجتبی محرمی ۸
بیماری کزاز و نقش موسسه رازی در کنترل و پیشگیری از آن در ایران
• مجتبی نوفلی و افشین حاجی زاده ۱۳
بیماری آنفلوانزای پرندگان و نقش موسسه رازی در کنترل و پیشگیری از آن در ایران
• مهسا لاری بقال ۲۰
عقرب گزیدگی و نقش موسسه رازی در توسعه دانش فنی تولید پادزهر
• فاطمه ثعلبی ۲۵
بیماری برونشیت عفونی پرندگان و نقش موسسه رازی در پیشگیری از آن
• شهین مسعودی، مسعود مقدم پور، شهلا شاهسوندی و لیلا پیشرفت ثابت ۳۱
واکسیناسیون طیور در آنفلوانزای فوق حاد پرندگان
• حمیدرضا فرزین ۳۸
الزامات امنیت زیستی تیم دامپزشکی در مراجعه به اماکن پرورش و نگهداری دام
• لیلا پیشرفت ثابت و زهرا برادران سید ۴۳

پایدارکننده‌های واکسن: انواع، کاربرد، مکانیسم اثر

زهرا برادران سید [۱]، لیلا پیشرفت ثابت* [۱]

۱- عضو هیات علمی (استادیار)، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج ، ایران.

* نویسنده مسئول: لیلا پیشرفت ثابت l.sabet@rvsri.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۸

چکیده

تولید واکسن‌هایی با کارایی (Efficacy)، توانمندی (Potency) و ایمنی‌زایی مناسب جزو اهداف مهم سازندگان واکسن محسوب می‌شود. ترکیبات موجود در واکسن، شامل ماده موثره (آنتی‌ژن، API; Active pharmaceutical ingredient) و مواد افزودنی فرعی (اکسیپیان، Excipient) هستند که باید به نحو مناسبی در ترکیب واکسن فرموله شوند. پایدار/ تثبیت‌کننده‌ها (Stabilizers)، گروهی از اکسیپیان‌ها هستند که باعث می‌شوند کیفیت واکسن‌ها در طول فرایندهای ذخیره‌سازی، توزیع و آماده‌سازی، حفظ شده و در شرایط جوی مختلف در سراسر جهان، با امکانات و زیرساخت‌های متنوع، قابل مصرف باشند. پایدارکننده‌ها انواع مختلف با مکانیسم‌های اثر متنوع دارند که بر اساس خصوصیات‌شان در فرمولاسیون واکسن‌ها به کار می‌روند. در این مقاله در ابتدا اجزای فرعی واکسن معرفی شده‌اند. سپس، انواع پایدارکننده‌ها و مکانیسم اثرشان به عنوان بخشی از اکسیپیان‌ها شرح داده شده‌اند. در ادامه، به پایدارکننده‌های پرمصرف در واکسن‌های موسسه رازی اشاره شده است. در نهایت، توصیه‌های ترویجی برای شرکت‌های واکسن‌ساز و سرمایه‌گذاران این صنعت ارائه گردیده است..

واژگان کلیدی

واکسن، پایداری واکسن، پایدارکننده

بیان مسئله و اهمیت موضوع

یکی از چالش‌های مهم در فرآورده‌های بیولوژیک از جمله واکسن‌ها، مسئله ناپایداری آن‌ها در طول مراحل تهیه و نگهداری است. این بی‌ثباتی می‌تواند کارآیی و توانمندی آن‌ها را تحت تاثیر قرار دهد. پروتئین‌ها و سایر ماکرومولکول‌ها به فاکتورهای محیطی از جمله گرما، نور، تشعشع و تغییرات محیطی حساس‌اند. بنابراین، بهینه‌سازی پایداری آن‌ها از تولید تا مصرف، بخش مهمی از مطالعات توسعه‌ای واکسن را تشکیل می دهد. حتی در شرایط مطلوب، توانمندی واکسن به عنوان تابعی از زمان کاهش می‌یابد.

بهبود پایداری واکسن به ویژه پایداری دمایی منجر به فواید بهداشتی و اقتصادی بی‌شماری می‌شود. از آن جمله می‌توان به گسترش پوشش واکسیناسیون، ایمن‌سازی موثر همراه با مدیریت بهتر هزینه‌های تولید، دسترسی مصرف‌کننده به واکسن‌های توانمند، افزایش عمر ماندگاری واکسن، کاهش ضایعات و گردش مالی واکسن اشاره کرد. با وجود چنین مزایای آشکار و نیاز فوری به بهبود پایداری دمایی واکسن‌ها، محدودیت‌های اقتصادی و بازگشت سرمایه هم‌چنان از موانع اصلی توسعه واکسن‌های پایدار در برابر تغییرات دمایی هستند. پیشرفت‌های نوآورانه و فرمولاسیون جدید واکسن‌ها جهت افزایش پایداری واکسن‌ها ضروری است، اما این نوآوری‌ها می‌توانند با تحمیل هزینه‌های فرمولاسیون مجدد واکسن، آزمایش‌های بالینی اضافی و تأییدیه‌های نظارتی مازاد، همراه شوند. از سوی دیگر، بهینه‌سازی پایداری دمایی واکسن مزیت‌های متعددی را برای سازنده واکسن به دنبال دارد، از جمله: راندمان تولید بالاتر، کاهش هزینه‌های ناشی از بازپس‌گیری (Recall)، ذخیره‌سازی و حمل در دمای مناسب (۳).

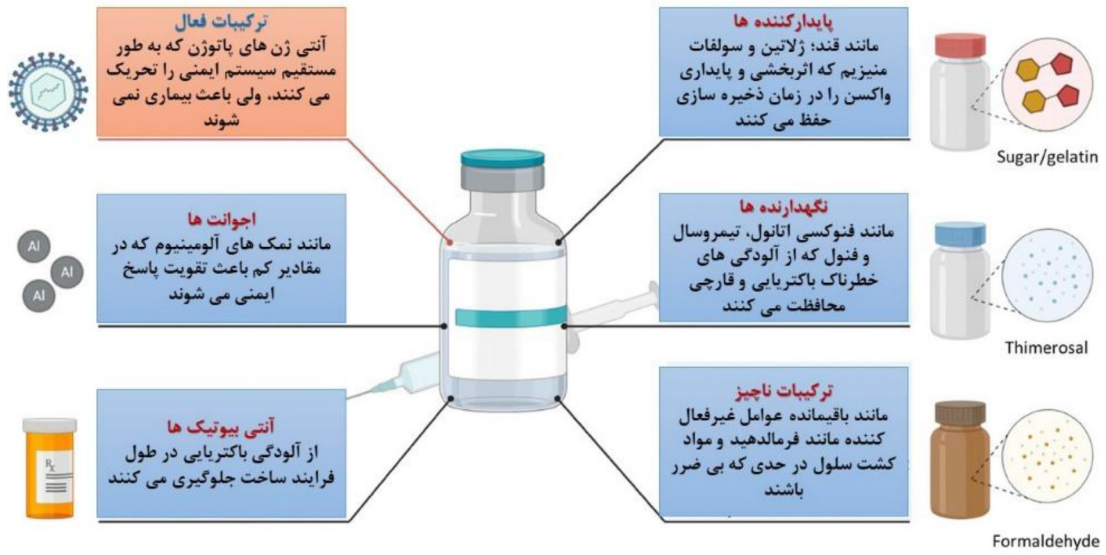
تلاش‌هایی در جهت فائق آمدن بر چالش پایداری حرارتی/ دمایی واکسن در برنامه‌های واکسیناسیون در سراسر جهان توسط چندین نهاد خصوصی، دولتی و دانشگاهی در جریان است. از آن‌جمله، فراخوانی تحت عنوان «واکسن‌هایی که نیاز به یخچال ندارند» به عنوان یکی از ۱۶ چالش بزرگ در حوزه سلامت جهانی می باشد که در ابتدای قرن حاضر، توسط بنیاد بیل و ملیندا گیتس (Bill and Melinda Gates Foundation) مطرح شد (۳).

ترکیبات واکسن از محصولی به محصول دیگر متفاوت است (شکل شماره ۱). واکسن‌ها علاوه بر ماده فعال (آنتی‌ژن)، اجزای متنوعی دارند که بسته به فرآیندهای تولید متغیر است. هر ماده‌ای به غیر از ماده فعال که در طول مراحل تولید واکسن استفاده می‌شود، صرف‌نظر از مقدار آن در فراورده نهایی، باید در گروه مواد افزودنی یا اکسیپیان لیست شود. به عنوان یک اصل، هر ماده‌ای نیز که در محصول نهایی مورد نیاز نیست، باید طی مراحل تصفیه به مقادیر میکروگرم (mcg) یا پیکوگرم (pcg) کاهش یابد (۱و۴).

گروه‌های اصلی اکسیپیان‌ها عبارتند از:

۱- یاورها (اجوانت‌ها): برای افزایش پاسخ ایمنی بدن نسبت به واکسن

۲- پایدارکننده‌ها: برای حفظ و نگهداری ماده موثره واکسن



شکل شماره ۱- اجزای اصلی تشکیل‌دهنده واکسن شامل مواد فعال (آنتی‌ژن) و مواد غیرفعال (۵)

۳- نگهدارنده‌ها/آنتی بیوتیک‌ها: برای جلوگیری از آلودگی ثانویه
۴- رقیق‌کننده‌ها: برای افزایش حجم بالک تهیه شده
۵- غیرفعال‌کننده‌ها: برای غیرفعال کردن میکروارگانیسم‌ها

دستاورد

پایدارکننده‌ها ترکیباتی هستند که در صنایع غذایی، دارویی و تولید واکسن کاربرد دارند. در صنعت واکسن، این ترکیبات در مراحل تولید به واکسن اضافه شده و منجر به حفظ توانمندی و کارایی واکسن در تمام مراحل ساخت، نگهداری و تجویز می‌شوند. بسته به نوع واکسن، گنجاندن عوامل تثبیت‌کننده برای پایداری API، بسیار تعیین‌کننده است. بیشتر تثبیت‌کننده‌های موجود در واکسن‌ها از ترکیبات ایمن و بی‌ضرر هستند (جدول شماره ۱) (۳). همه این جنبه‌ها نشان‌دهنده دانش حیاتی سازنده است و ترکیب پایدارکننده/تثبیت‌کننده واکسن می‌تواند به عنوان مالکیت معنوی مطرح باشد. استراتژی تعیین پایدارکننده مناسب در تهیه واکسن، پیشگیری از غیرفعال شدن آن تحت فشارهای محیطی می‌باشد. پایدارکننده کمک می‌کند که حتی اگر واکسن‌ها در معرض تغییرات محیطی شدید از جمله دما، رطوبت، نور و غیره قرار گیرند، کارایی خود را حفظ نمایند.

با استفاده از اطلاعات حاصل از بروشورهای محصولات تجاری بیش از ۷۰ نوع واکسن‌های زنده تخفیف‌حدت‌یافته، زیرواحد (Subunit) و غیرفعال، مشخص گردیده است که آلبومین و ژلاتین به ترتیب در ۱۲ و ۱۹ درصد واکسن‌های زنده تخفیف‌حدت‌یافته و غیرفعال وجود دارند، در حالی که در فرمولاسیون واکسن‌های زیرواحد هیچ‌کدام از این دو تثبیت‌کننده مشاهده نمی‌گردد. مخلوط اسیدهای آمینه برای افزایش حلالیت و پایداری پروتئین استفاده می‌شود. دلایل مختلفی برای حضور اسیدآمینه در فرمولاسیون واکسن وجود دارد که به خصوصیت فیزیکوشیمیایی اسیدآمینه بستگی دارد. اسیدهای آمینه مانند گلوتامات، آرژنین، هیستیدین و آلانین در حدود ۲۵ تا ۳۰ درصد از انواع فرمولاسیون‌های واکسن‌ها به ویژه تخفیف‌حدت‌یافته، وجود دارند (۳).

قندها (مونو/ دی/ پلی‌ساکاریدها) از گروه‌های تثبیت‌کننده مهم در فرمولاسیون واکسن هستند. در صنعت داروسازی، تقریباً یک سوم پروتئین‌های درمانی در بلورهای قندی تثبیت می‌شوند. ساکارز و سوربیتول متداول‌ترین تثبیت‌کننده‌های قندی در فهرست واکسن‌های دارای مجوز هستند که به ترتیب در ۲۰ و ۱۴ درصد واکسن‌ها وجود دارند. سایر ترکیبات قندی تحت آزمایش مانند مانیتول، ترهالوز و اینولین هم مورد استفاده قرار می‌گیرند. چندین گزارش از خواص تثبیت‌کننده ترهالوز و اثر محافظتی آن در برابر سرما وجود دارد و آن را به عنوان محتمل‌ترین نامزد برای فرمولاسیون واکسن‌های تخفیف‌حدت‌یافته نشان می‌دهند. بهره‌مندی از ترهالوز به علت تطبیق‌پذیری و پتانسیل پایدارسازی آن، در شیوه‌های تحویل جایگزین (Alternative delivery routes) مانند میکروسوزن‌ها (Microneedle)، پودر لیوفیلیزه، اسپری مایع و اسپری پودر خشک دنبال شده است. استفاده از اینولین نیز به عنوان یک محافظت‌کننده نویدبخش در برابر سرما و لیوفیلیزه به‌ویژه برای ویروزوم (Virosome) ها گزارش شده است (۶). شیر بدون چربی (Skimmed milk) نیز یک پایدارکننده ترکیبی است که در ترکیب برخی از واکسن‌ها استفاده می شود. شیر بدون چربی حاوی پروتئین‌های لاکتالبومین، لاکتگلوبولین‌ها (lactglobulin)، کازئین (Casein) و لاکتوفرین (lactoferin)، لاکتوز و مواد معدنی است (۷).

مکانیسم‌های پایدارکنندگی واکسن‌ها توسط بافرها/ پایدارکننده‌ها

پایدار/تثبیت‌کننده‌ها با مکانیسم‌های مختلفی منجر به پایداری واکسن‌ها می‌شوند. انواع مکانیسم‌های پایدارکنندگی و مثال‌هایی از بافرها و پایدارکننده‌های رایج در هر گروه، در جدول شماره ۲ آمده است.

جدول شماره ۱- انواع پایدارکننده های ایمن و بی‌ضرر دارای مجوز استفاده در ترکیب واکسن‌ها (۳)

نوع پایدارکننده	مثال
اسیدآمینه‌ها	آرژنین، آسپارتات، کلیسین، گلوتامات، هیستیدین، لیزین، پرولین
آنتی اکسیدان‌ها	آسکوربیک اسید، EDTA، اسید مالیک
پروتئین‌ها	آلبومین انسانی، ژلاتین
قندها/پلی‌ال‌ها	دکستروز، گلیسرول، لاکتوز، مانیتول، میواینوزیتول، سوربیتول، سوکروز، ترهالوز
سورفکتانت‌ها	پلورونیک، توئین، پلی‌سوربات

مکانیسم کاهش جذب در حضور سورفکتانت‌ها رخ می‌دهد. هم‌چنین اسمولیت‌های پلی‌اول (Polyol osmolytes) مانند گلیسرول می‌توانند آنتی‌ژن باسیلوس آنتراسیس را در برابر دناتوراسیون حرارتی تثبیت کنند. درحالی‌که، لاکتالبومین هیدرولیزشده قادر است تجمع/دناتوراسیون ناشی از حرارت را در واکسن طاعون نشخوارکنندگان کوچک مهار کند. دآمیداسیون (هیدرولیز زنجیره‌های جانبی آمیدی اسیدهای آمینه) در آنتی‌ژن محافظت‌کننده باسیلوس آنتراسیس منجر به کاهش سمیت سلولی در دما و pH مشخص می‌شود. واکنش اکسیداسیون رادیکال آزاد یکی از مسیرهای اصلی تخریبی مورد استفاده برای فرمولاسیون پروتئین و واکسن است. عوامل متعددی شامل دما، یون‌های فلزی و حضور رادیکال‌های آزاد هیدروکسی و اکسیژن مولکولی بر سرعت واکنش اکسیداسیون تأثیر می‌گذارند. مهارکننده‌های هیدروکسی رادیکال آزاد و بازدارنده‌های اکسیداسیون مانند اتانول، اتانول‌آمین، ال-هیستیدین و شلاتورهای فلزی مانند اتیلن دی‌آمین تتراستیک اسید (EDTA) و سیترات تثبیت‌کننده‌های موثری در فرمولاسیون واکسن‌های وکتور آدنوویروس هستند. حرارت منجر به از بین رفتن عفونت‌زایی ویروس واکسن خوراکی فلج اطفال از طریق تخریب ساختار پروتئین کپسید و اسید نوکلئیک می‌شود. با افزودن پیرودواویر و کلرید منیزیم می‌توان از دناتوره شدن پروتئین کپسید ویروسی جلوگیری کرد. واکسن‌ها طی فرایند فریزدراینگ و لیوفیلیزاسیون

جدول شماره ۲- مکانیسم‌های تثبیت واکسن‌ها توسط بافرها و پایدارکننده‌ها (۸)

ردیف	مکانیسم اثر پایدارکننده	مثال‌هایی از بافرها/پایدارکننده‌ها
۱	کاهش جذب/ تجمع/ دناتوره شدن	سورفاکتانت‌ها: پلی‌سوربات ۸۰، پلی‌سوربات ۲۰، بریج (Brij) ۳۵
		پلی الکل اسمولات: گلیسرول
		پروتئین‌ها: لاکتالبومین هیدرولیز شده
۲	کاهش دآمیداسیون	بافر سیترات
۳	کاهش اکسیداسیون رادیکال آزاد	EDTA، اتانول، تری‌اتانول‌آمین، L-هیستیدین
۴	افزایش اتصال کپسید ویروسی- ممانعت از دناتوراسیون حرارتی	پیروندواویر (Pirondavir)
۵	اتصال به مکان‌های ویژه و چندگانه روی واکسن	کاتیون‌های دوظرفیتی مثل کلراید منیزیم
۶	محافظت در برابر سرما/ کاهش غیرفعال شدن ناشی از یخ‌زدگی-ذوب شدن	سوکروز، سوربیتول، گلیسرول
۷	محافظت در برابر خشک شدن/ کاهش غیرفعال شدن ناشی از لیوفیلیزاسیون	سوکروز، ترهالوز، دکستران
۸	تشکیل پیوندهای هیدروژنی پایدارکننده	اوره
۹	محافظت اسمزی	گلیسین و مشتقات متیل
۱۰	پایداری حرارتی	دی‌آمید، اکسید دوتریوم
۱۱	پیوند متقابل موقعیت‌های واکنش‌پذیر در زیر واحدهای پروتئینی	فرمالدئید

دچار تغییرات ساختاری می‌شوند. کربوهیدرات‌هایی مانند ساکارز، ترهالوز و دکستران در برابر سرما (Cryoprotection) و خشک‌کردن (Lyoprotection) محافظت می‌کنند. واکسن‌های لیوفیلیزه به اندازه کافی در حضور لیوپروتکتانت‌های (Lyoprotectant) رایج، تثبیت نمی‌شوند. با افزودن اوره و مشتقات آن به طور قابل توجهی پایداری واکسن‌های لیوفیلیزه بهبود می‌یابد. این اثر در مورد واکسن‌های سرخک، اوریون و سرخجه بررسی شده است. گلایسین و مشتقات متیل آن از غیرفعال شدن حرارتی آنتی‌ژن محافظ باسیلوس آنتراسیس با مکانیسم محافظت اسمزی جلوگیری می‌کنند. اکسید دوتریوم (Deuterium oxide) می‌تواند پایداری حرارتی ویروس فلج اطفال و سویه واکسینال 17D تب زرد را افزایش دهد. اکسید دوتریوم پروتئین‌ها و واکسن‌ها را در برابر دناتوره‌شدن محافظت می‌کند و از تخریب RNA ویروسی در کپسید واکسن فلج اطفال خوراکی جلوگیری می‌کند. تشکیل پیوند دی‌سولفیدی در واکسن کاندید پروتئین نوترکیب، پایداری حرارتی را از طریق تشکیل پروتئین‌های دایمر و تریمر کپسید ویروسی افزایش می‌دهد. مکانیسم تثبیت از طریق اتصال متقاطع مکان‌های فعال در زیر واحدهای مجاور پوسته‌های پروتئینی است. ساختار کپسید سویه Q ویروس موزاییک خیار توسط تیمار فرمالدئید تثبیت می‌شود و ایمنی‌زایی در حیوان مدل افزایش می‌یابد. فرمالدئید واکسن سیاه سرفه را نیز از طریق همین مکانیسم، بدون تأثیر گذاشتن بر روی واکنش‌پذیری آن تثبیت می‌کند (۸).

معمولا واکسن‌های حاوی میکروارگانیسم‌های زنده به صورت لیوفیلیزه تهیه می‌شوند. پایدارکننده مناسب، ارگانیسم‌های زنده را در طی مراحل خشک‌کردن انجمادی (فریزدراییِنگ؛ Freeze-drying) و لیوفیلیزاسیون محافظت می‌کند و نگهداری واکسن‌ها را تحت شرایط ایده‌آل در گذر زمان تسهیل می‌کند. پایدارکننده‌ها به عنوان یک عامل محافظت‌کننده در برابر سرما (Cryoprotective)، منجر به حفظ ساختار پروتئین و یا اسیدهای نوکلئیک طی فرایند بحرانی لیوفیلیزاسیون می‌شود (۹). همچنین ممکن است pH محصول و غلظت املاح طی فرایند لیوفیلیزاسیون تغییر کند. پایدارکننده‌ها باعث محافظت از آنتی‌ژن‌های واکسن در برابر این تغییرات می‌شود (۱۰).

سابقه استفاده از پایدارکننده‌های مختلف در ساختار واکسن‌های تولیدی موسسه رازی

ترکیبات پایدارکننده متعددی در بازه‌های زمانی مختلف در فرایند تولید واکسن‌های موسسه رازی استفاده شده‌اند (۲). از آن جمله می‌توان به لاکتالبومین و سوکروز اشاره کرد که در ترکیب واکسن‌های ویروسی دامی به‌کار رفته است. همین‌طور، ژلاتین هیدرولیز، سوربیتول و سدیم گلوتامات در واکسن‌های سرخک، سرخجه و اوریون وجود دارند. سابقه استفاده از شیربدون چربی (Skimmed milk) در واکسن‌های ویروسی طیور موسسه رازی وجود دارد. در زمینه استفاده از پایدارکننده‌ها در ترکیب واکسن، مطالعات متعددی نیز انجام شده است و نتایج قابل توجهی بدست آمده است. اثر پایدارکنندگی سوکروز و منیزیم کلراید بر روی پایداری واکسن زنده پولیو سویه سابین توسط پروفسور میرشمسی بررسی شده است (۱۱). هم‌چنین، پایداری حرارتی و ایمنی‌زایی واکسن‌های اوریون (سویه RS-12) و سرخجه (سویه تاکاهاشی؛ Takahashi) با فرمولاسیون‌های متفاوت از ترکیبات ترهالوز دهیدراته، ژلاتین هیدرولیز شده، سدیم گلوتامات، آلبومین سرم انسان، سوکروز، KH2PO4، Na2HPO4 و NaCl مطالعه شده است (۱۲-۱۵). ارزیابی پایداری واکسن برونشیت عفونی طیور سویه H120 با استفاده از لاکتالبومین، سوکروز، لاکتوز، ژلاتین هیدرولیز شده و سوربیتول انجام شده است (۱۶).

توصیه ترویجی

امروزه در سراسر جهان، تولید واکسن‌های ارزان، کارآمد و پایدار از چالش‌های مهم صنعت واکسن‌سازی است. در قرن حاضر، بیماری‌های بازپدید و نوپدید مانند آنفلوانزاهای مشترک انسان و دام، وضعیت اضطراری ویروس ابولا در آفریقا، شیوع زیکا ویروس در آمریکای لاتین و یا پاندمی کووید-۱۹، همراه با رقابت فزاینده بازار، نشان‌دهنده لزوم تولید واکسن‌های مقرون به صرفه در کمترین زمان ممکن است. توسعه و نوآوری واکسن‌های پایدار دمایی از راهکارهای تولید مقرون به صرفه است. در این زمینه موارد زیر قابل توجه است:

۱. برای افزایش عمر قفسه‌ای واکسن‌ها، علاوه بر افزودن پایدارکننده‌ها باید اقدامات مکمل دیگری نیز انجام گیرند از جمله حفظ زنجیره سرد، حفاظت از نور، لیوفیلیزاسیون، جلوگیری از نفوذ هوا، دقت در انتخاب ظروف اولیه بسته‌بندی

۲. فرمولاسیون مناسب واکسن‌ها با اکسیپیان‌های مختلف از جمله پایدارکننده‌ها بر ایمنی‌زایی، کارایی و/یا پایداری واکسن تاثیر می‌گذارد، هزینه‌های لازم در فرایند ذخیره‌سازی، توزیع و آماده‌سازی را کاهش داده و از خسارات‌های ناشی از بازپس‌گیری یا کاهش فروش واکسن جلوگیری می‌کند. بنابراین رویکرد جایگزین برای توسعه تکمیلی و بهبود فرمولاسیون واکسن‌ها با اکسیپیان‌ها و پایدارکننده‌ها باید در دستور کار مراکز تحقیق و توسعه واکسن باشد.

۳. این نکته باید مدنظر قرار گیرد که پایداری واکسن

لزوما پایداری حرارتی نیست. گاهی تخریب پروتئین یا تغییرات شیمیایی در ساختار ترکیبات واکسن رخ می‌دهد که فرمولاسیون و بهره‌مندی از پایدارکننده‌های مختلف با مکانیسم‌های اثر متفاوت برای فائق آمدن بر این چالش‌ها باید در دستور کار صنعت واکسن و سرمایه‌گذاران باشد.

۴. پایدارکننده‌ها با منشا حیوانی (مانند FBS، ژلاتین و آلبومین) می‌تواند همراه با پیامدهای نامطلوب ایمن‌سازی مثل واکنش‌های ازدیاد حساسیت باشد. پیشنهاد شده است که این مواد با سایر انواع تثبیت کننده‌ها مانند پروتئین‌های نوترکیب جایگزین شود.

۵. مقامات نظارتی دولتی و سیاست‌گذاران، از طریق مشوق‌ها و دستورالعمل‌ها، باید توسعه فرمول‌های جدید واکسن پایدار را مورد حمایت قرار دهند و آن را برای صنعت واکسن‌سازی جذاب‌تر نمایند.

فهرست منابع

۱. برادران-سید-ز، پیشرفت-ثابت ل. واکسن برای دامپزشکان: انتشارات موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، ۲۰۲۱.

۲. موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی. دستیابی به تکنولوژی تولید واکسن‌ها و فراورده‌های بیولوژیک دامی: انتشارات سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ۱۳۹۴.

3. Cardoso F, Petrovajová D, Horňáková T. Viral vaccine stabilizers: status and trends. Acta.2017;61(3):231-9

4. Domachowske J. Vaccine Additives and Excipients. Vaccines: A Clinical Overview and Practical Guide.2021:49-76.

5. Majumder J, Minko T. Recent developments on therapeutic and diagnostic approaches for COVID-19. The AAPS journal. 2021 Jan;23:1-22.

6. de Jonge J, Amorij J-P, Hinrichs WL, Wilschut J, Huckriede A, Frijlink HW. Inulin sugar glasses preserve the structural integrity and biological activity of influenza virosomes during freeze-drying and storage. european journal of pharmaceutical sciences. 2007;32(1):33-44.

7. Bassiouny AI, El-Dakhly A. Efficacy of skimmed milk as stabilize in comparison with lactose albumen sucrose in production of fowl and pigeon pox vaccines. International Journal. 2019;4 (2)

8. Singh M, Srivastava IK. Development of Vaccines: From Discovery to Clinical Testing: John Wiley & Sons; 2011.

9. Rexroad J, Wiethoff CM, Jones LS, Middaugh CR. Lyophilization and the thermostability of vaccines. Cell Preservation Technology. 2002;1(2):91-104.

10. Brandau DT, Jones LS, Wiethoff CM, Rexroad J, Middaugh CR. Thermal stability of vaccines. Journal of pharmaceutical sciences. 2003;92(2):218-31.

11. Mirchamsy H, Shafyi A, Mahinpour M, Nazari P. Stabilizing effect of magnesium chloride and sucrose on Sabin live polio vaccine. Developments in biological standardization. 1978;41:255-7.

12. Jamil RK, Taqavian M, Sadigh Z-A, Shahkarami M-K, Esna-Ashari F, Hamkar R, et al. Evaluation of the thermal stability of a novel strain of live-attenuated mumps vaccine (RS-12 strain) lyophilized in different stabilizers. Journal of virological methods. 2014;199:35-8.

13. Kamali-Jamil R, Shayestehpour M, Sadigh Z-A, Taqavian M, Shahkarami M-K, Esna-Ashari F, et al. The effect of various stabilizers on preserving immunogenicity of lyophilized mumps vaccines. Journal of Research in Health Sciences. 2017;17(4):393.

14. Shayestehpour M, Shafyi A, Taqavian M, Esnaashari F, Mohammadi A, Shahbazi R. A study of the thermal stability of measles vaccine produced by AIK-C strain. Journal of Arak University of Medical Sciences. 2012;15(4):26-33.

15. Shokri S, Shahkarami MK, Shafyi A, Mohammadi A, Esna-Ashari F, Hamta A. Evaluation of the thermal stability of live-attenuated Rubella vaccine (Takahashi strain) formulated and lyophilized in different stabilizers. Journal of virological methods. 2019;264:18-22.

16. Pishraft-Sabet L, Masoudi S, Hoseini-Vafa N. Evaluation of various chemical stabilizers on the stability of avian infectious bronchitis vaccine (In persion). Veterinary Research & Biological Products. 2015;28(4):52-9.

فرآورده‌های بیولوژیک حاصل از حیوانات آزمایشگاهی (تولیدی مؤسسه رازی) و موارد کاربرد آن‌ها

روزبه فلاحی[1*]، مجتبی محرمی[2]

۱- عضو هیأت علمی (دانشیار)، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۲- عضو هیات علمی (استادیار)، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

*نویسنده مسئول: روزبه فلاحی fallahiroozbeh@gmail.com

تاریخ دریافت: ۲۱-۰۸-۱۴۰۲ تاریخ پذیرش:۲۷-۰۸-۱۴۰۲

چکیده

بخش تولید و پرورش حیوانات آزمایشگاهی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی یکی از مراکز مهم و اصلی تولید و پرورش حیوانات آزمایشگاهی در کشور می‌باشد. نگهداری، تکثیر و پرورش این حیوانات از سال ۱۳۲۹ آغاز شده و طی این سالیان، انواع حیوانات آزمایشگاهی شامل موش، رت، همستر، خوکچه هندی و خرگوش در نژادهای گوناگون تولید و پرورش داده می‌شوند. با استفاده از روش‌های نوین در خصوص اصلاح روش‌های تکثیر و پرورش و افزایش راندمان تولیدمثل، استانداردسازی شرایط و نیازهای محیط زیست، جایگاه و قفس‌های نگهداری و پرورش، تغذیه، کنترل و حذف بیماری‌های احتمالی با رعایت اصول اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفته تا نهایتاً حیواناتی با بهترین کیفیت جهت استفاده در آزمایشات کنترل کیفی واکسن‌ها و فرآورده‌های بیولوژیک و نیز در تحقیقات گوناگون در بخش‌های مختلف تولیدی و تحقیقاتی مؤسسه رازی و نیز در سایر مراکز تولیدی، تحقیقاتی و آموزشی سراسر کشور فراهم گردد. از دیگر فعالیت‌های این بخش تولید فرآورده‌های بیولوژیک حاصل از حیوانات آزمایشگاهی است که از سال ۱۳۷۲ تاکنون ادامه یافته و شامل همولیزین، سرم خرگوش، پلاسمای خرگوش، کمپلمان خرگوش، کمپلمان خوکچه هندی و خون دفیبرینه گوسفندی می‌باشد و باعث شده که مؤسسه رازی به عنوان یکی از مهم‌ترین مرکز تولیدکننده فرآورده‌های بیولوژیک حاصل از حیوانات آزمایشگاهی در کشور مطرح گردد که ضمن کیفیت مشابه با محصولات وارداتی، تأمین‌کننده نیازهای بخش‌های مختلف مؤسسه و نیز مراکز تحقیقاتی، دانشگاهی و تولیدی کشور بوده و صرفه‌جویی قابل توجه ارزی نیز در این خصوص ایجاد شده است.

واژگان کلیدی

حیوانات آزمایشگاهی، فرآورده‌های بیولوژیک، مؤسسه رازی

بیان مساله و اهمیت موضوع

حیوانات آزمایشگاهی در زمینه‌های مختلف کاربرد داشته و سالیانه میلیون‌ها سر از این حیوانات در پژوهش‌های گوناگون مانند زیست‌شناسی، ایمنی‌شناسی، انگل‌شناسی، پاتوفیزیولوژی، سرطان، ژنتیک، اختلالات ارثی، تغذیه، بیماری‌های عفونی، جراحی تجربی، رادیولوژی، پیوند اعضاء، تعیین اثر داروهای جدید و آزمایش‌های کنترل کیفیت و اثربخشی واکسن‌ها و فرآورده‌های بیولوژیک در سراسر دنیا استفاده می‌شوند(۱، ۵). مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی یکی از مراکز مهم و اصلی تولید و پرورش حیوانات آزمایشگاهی در کشور می‌باشد. نگهداری، تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی در این مرکز از سال ۱۳۲۹ آغاز شده و طی سال‌های گذشته، انواع حیوانات آزمایشگاهی، شامل موش، رت، همستر، خوکچه هندی و خرگوش در نژادهای گوناگون تولید و پرورش داده می‌شوند (۲). در ضمن، از این حیوانات برای تولید انواع مختلفی از فرآورده‌ها استفاده می‌شود که در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و تحقیقاتی (برای امور تشخیص ایمنی‌شناسی و میکروبیولوژی و نیز محیط‌سازی) مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱).

دستاورد

بخش تولید و پرورش حیوانات آزمایشگاهی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی نزدیک به سه دهه (از سال ۱۳۷۲) در زمینه تولید فرآورده‌های بیولوژیک حاصل از حیوانات آزمایشگاهی شامل همولیزین، سرم خرگوش، پلاسمای خرگوش، کمپلمان خرگوش، کمپلمان خوکچه هندی و خون دفیبرینه گوسفندی، فعالیت می‌نماید. از آنجاکه این فرآورده‌ها در درجه اول به مصرف آزمایش‌های کنترل کیفیت واکسن‌ها و فرآورده‌های بیولوژیک تولید شده در این مؤسسه می‌رسند، از این رو نقشی استراتژیک در تأیید و ترخیص انواع فرآورده‌های بیولوژیک دارند. این بخش ضمن تأمین تمام نیازهای مؤسسه رازی به انواع فرآورده‌های بیولوژیک حاصل از حیوانات آزمایشگاهی، جهت کنترل کیفیت واکسن‌ها و فرآورده‌های بیولوژیک و نیز پروژه‌های تحقیقاتی، توانسته است نیازهای سایر مراکز تحقیقاتی، تولیدی، دانشگاهی و آزمایشگاه‌های تشخیص طبی سراسر کشور را به این فرآورده‌ها فراهم نماید. این مراکز با هماهنگی با این بخش و ارائه درخواست رسمی، می‌توانند نسبت به خرید محصولات مورد نیاز خود، اقدام نمایند. بخش تولید و پرورش حیوانات آزمایشگاهی مؤسسه رازی طی سالیان متوالی با کسب تجربیات فراوان و رعایت استانداردهای بین‌المللی به عنوان یکی از معتبرترین مرکز تولید فرآورده‌های بیولوژیک حاصل از حیوانات آزمایشگاهی در کشور شناخته شده است. قطعاً توجه و حمایت‌های مستمر، موجب ارتقاء کیفیت و به روزرسانی روش‌های نوین تولید این فرآورده‌ها و پویایی هر چه بیشتر آن خواهد شد.

انواع فرآورده‌های بیولوژیک که با رعایت اصول اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی در مؤسسه رازی تولید شده و موارد استفاده قرار می‌گیرند به شرح زیر می‌باشد: (۲، ۳).

کمپلمان خوکچه هندی

یکی از فرآورده‌های بیولوژیک تهیه شده از خوکچه هندی، کمپلمان است (تصویر شماره ۱). کمپلمان مخلوطی از گلوبولین‌ها (Globulines) می‌باشد که بطور طبیعی در خون وجود داشته و به عنوان یک ماده ضروری جهت واکنش‌های سرم‌شناسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. عناصر مکمل موجود در خون خوکچه هندی نسبت به دیگر حیوانات آزمایشگاهی و نیز انسان، فعال‌تر و دارای ویژگی همولیتیک (Hemolytic) بیشتری می‌باشند. در سرم این حیوان مقادیر فراوانی از کمپلمان وجود دارد. کمپلمان خوکچه هندی بر طبق دستورالعمل استاندارد (SOP)، از سرم تازه این حیوان، پس از پروسه شوک سرمایی بدست می‌آید. این محصول به صورت لیوفیلیزه عرضه می‌شود و به مدت یک سال تا تاریخ انقضای نوشته شده بر روی آن پایدار است. در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و مراکز تحقیقاتی، جهت آزمایش‌های ثبوط عناصر مکمل، تایپینگ HLA، (Human leukocyte antigen typing) تطبیق متقاطع لنفوسیتوتوکسی سیته،(Lymphocytotocicity crossmatching) برای تعیین سازگاربودن، دهنده و گیرنده جهت کاهش احتمال پس زدن پیوندها و به منظور شناسایی آنتی‌ژن‌های متصل‌شده به غشای لنفوسیت‌ها به‌کار می‌رود. جهت آماده‌سازی ویال لیوفیلیزه، ۱ میلی‌لیتر آب مقطر خنک به آن اضافه نموده و آنرا به آرامی هم زده تا کاملاً حل و یکنواخت شود. پس از آن کمپلمان تا یک ساعت قابل استفاده می‌باشد(۶).

تصویر شماره ۱- ویال کمپلمان خوکچه هندی تولید مؤسسه رازی

سرم خرگوش

بر طبق دستورالعمل استاندارد، سرم خرگوش به روش عاری از آلودگی (Aseptic) و در شرایط استریل، بدون افزودن ماده نگهدارنده، از خون تازه، سالم و غیرایمن شده خرگوش تهیه و به صورت لیوفیلیزه عرضه می‌شود (تصویر شماره ۲). در آزمایشگاه‌ها و مراکز تحقیقاتی جهت غنی‌سازی محیط‌های کشت میکروارگانیسم‌ها، کشت سلول و مطالعات ایمنی‌شناسی از جمله بلاکینگ (Blocking)، ایمونوهیستوشیمی (Immunohistochemistry)، الایزا، فلوسیتومتری (Flow cytometry) و ایمونوفلورسانس (Immunofluorescence) استفاده می‌شود. برای آماده‌سازی سرم لیوفیلیزه جهت مصرف، با رعایت شرایط آسپتیک، به ویال حاوی پودر لیوفیلیزه سرم خرگوش، ۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل افزوده و آن را به آرامی به‌هم زده تا کاملاً حل و یکنواخت شود. پس از آن سرم را می‌توان مصرف کرد(۷)

پلاسمای خرگوش

پلاسمای خون، قسمت مایع خون و فاقد سلول‌های خونی است که بر طبق دستورالعمل استاندارد، به صورت تازه و لیوفیلیزه تهیه می‌شود (تصویر شماره ۳). در شرایط آسپتیک و با اضافه کردن آب مقطر استریل می‌توان نوع لیوفیلیزه را جهت مصرف، آماده کرد. لیوفیلیزه آن حداقل به مدت یک سال تا تاریخ انقضاء نوشته شده بر روی آن پایدار است. پلاسمای خرگوش در آزمایش کوآگولاز (Coagulase) جهت تشخیص افتراقی باکتری ستافیلوکوکوس اورئوس از سایر گونه‌های کواگولاز منفی مانند استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس به کار می‌رود (۸).

همولیزین خرگوش

این فرآورده حاوی سرم هایپر ایمیون (Hyperimmune) که همان آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال خرگوش علیه گلبول‌های قرمز گوسفند می‌باشد. بر طبق دستورالعمل استاندارد، این محصول پس از تهیه، غالباً به صورت لیوفیلیزه عرضه می‌شود و به مدت ۲ سال تا تاریخ انقضای نوشته شده بر روی آن پایدار است (تصویر شماره ۴). جهت تولید همولیزین با تیتر بالا، به مواد و معرف‌های خاص، حیوان آزمایشگاهی مناسب، رعایت شرایط استاندارد و نیز روش کاربردی مناسب نیاز می‌باشد. دستورالعمل‌های زیادی جهت تولید همولیزین وجود دارد که به انواع متفاوتی از روش‌های تزریقی مانند تزریق داخل وریدی، زیرپوستی و داخل‌پوستی مقادیر متفاوتی از خون گوسفند به خرگوش‌های آزمایشگاهی جوان اشاره شده است. از میان همه روش‌ها، روش تزریق داخل پوستی و داخل وریدی به صورت دفعات متعدد، سرمی با تیتر بالا تولید می‌کند (۴). همولیزین در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و مراکز تحقیقاتی، جهت سنجش عملکرد اجزای کمپلمان از مسیر کلاسیک در تست CH50 برای بیماران دچار نقص سیستم ایمنی و یا افزایش عملکرد کمپلمان و نیز در تست سیستم‌های همولیتیک و آگلوتیناسیون استفاده می‌شود. همولیزین ماده‌ایست که ایجاد همولیز می‌کند. همولیزین‌ها، پروتئین‌ها و لیپیدهای اختصاصی هستند که از طریق آسیب رساندن به غشاء سلولی، با شکستن فسفولیپیدها باعث لیز گلبول‌های قرمز خون می‌شوند. از این رو به آنها اریترولیزین (Erythrolysin) و اریتروسیتولیزین (Erythrocytolysin) نیز اطلاق می‌گردد. همولیزین باعث آزادشدن هموگلوبین از گلبول‌های قرمز خون شده، این عمل بطور طبیعی در

تصویر شماره ۲- ویال سرم لیوفیلیزه خرگوش تولید مؤسسه رازی

تصویر شماره ۳- ویال پلاسمای لیوفیلیزه خرگوش تولید مؤسسه رازی

بدن و یا متعاقب تزریق گلبول‌های قرمز خارجی ایجاد می‌گردد. همولیزینی که متعاقب تزریق گلبول‌های قرمز خون از دیگر حیوانات مشابه آن گونه جانوری ایجاد گردد، ایزوهمولیزین(Isohemolysin) و اگر از خود حیوان باشد، اتولیزین (Autolysin) و در صورتی که از حیوانات گونه‌های دیگر تولید گردد، هترولیزین (Heterolysin) نامیده می‌شود. همولیزین ایمنی، همولیزینی است که از طریق تحریک سیستم ایمنی یک حیوان، توسط خون کامل یا سلول‌های خونی حیوان دیگر تولید می‌گردد. مانند تولید همولیزین در خرگوش که به واسطه حضور گلبول‌های قرمز گوسفند در این حیوان تولید می‌گردد. همولیزین خرگوشی، در واقع آنتی‌بادی پلی‌کلونال بر علیه گلبول‌های قرمز خون حیوانی مانند گوسفند است که قبلاً توسط ارلیش (Erlich) به آن آمبوسپتور (Amboceptor) اطلاق شده بود. آمبو به معنی هر دو می‌باشد. زیراکه این ترکیب دارای دو محل اتصال برای آنتی‌ژن و مکمل می‌باشد. امروزه واژه همولیزین که یکی از آنتی‌بادی‌های IgM بر علیه گلبول‌های قرمز خون گوسفند می‌باشد، جایگزین آمبوسپتور شده است. برای آماده‌سازی به شیشه حاوی پودر لیوفیلیزه همولیزین، ۱ میلی‌لیتر محلول آب مقطر استریل اضافه نموده و به آرامی آن را به هم زده تا کاملاً حل و یکنواخت شود. پس از آن همولیزین را می‌توان مصرف کرد (۹).

تصویر شماره ۴- ویال همولیزین لیوفیلیزه خرگوش تولید مؤسسه رازی

کمپلمان خرگوش

بر طبق دستورالعمل استاندارد،کمپلمان خرگوش از سرم تازه این حیوان، پس از پروسه شوک سرمایی بدست می‌آید. این محصول به صورت تازه و لیوفیلیزه عرضه می‌شود (تصویر شماره ۵). نوع لیوفیلیزه آن به مدت یک سال تا تاریخ انقضاء نوشته شده بر روی آن پایدار است. موارد استفاده آن همانند کمپلمان خوکچه هندی می‌باشد. جهت آماده‌سازی ویال لیوفیلیزه، ۲ میلی‌لیتر آب مقطر خنک به آن اضافه نموده و آنرا به آرامی هم زده تا کاملاً حل و یکنواخت شود. پس از آن کمپلمان تا یک ساعت، قابل استفاده می‌باشد (۶).

تصویر شماره ۵- ویال کمپلمان لیوفیلیزه خرگوش تولید مؤسسه رازی

خون دفیبرینه گوسفندی

بر طبق دستورالعمل استاندارد، این فرآورده به صورت آسپتیک از گوسفند سالم گرفته شده و فیبرین موجود در آن بدون افزودن ماده ضدانعقاد به روش مکانیکی حذف می‌شود. این محصول بطور معمول برای تهیه محیط بلاد آگار مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای این منظور پس از آماده‌سازی و استریل نمودن محیط کشت پایه، صبر کرده تا دمای آن به ۴۲ درجه سانتی‌گراد برسد. سپس به آرامی به میزان ۵ ٪ (۵۰ میلی‌لیتر به ازاء هر لیتر محیط کشت)، خون دفیبرینه به آن افزوده و به خوبی هم زده می‌شود. به هنگام استفاده از خون دفیبرینه، شرایط آسپتیک باید رعایت شود. همچنین از انجماد آن بایستی اجتناب کرده و از مصرف این فرآورده، پس از انقضای تاریخ مصرف آن، باید خودداری کرد. (تصویر شماره ۶) (۱۰).

تصویر شـماره ۶- ویال خون دفیبرینه گوسفندی تولید مؤسسه رازی

توصیه ترویجی

توصیه می‌شود مؤسسات تحقیقاتی، تولیدی، دانشگاهی و آزمایشگاه‌های تشخیص طبی سراسر کشور، صرفاً از مراکز تولیدکننده معتبر و شناخته‌شده، محصولات استاندارد و فرآورده‌های بیولوژیک مورد نیاز خود را با کیفیت مناسب تهیه کنند. در مراکز غیر معتبر، شرایط تولید و کنترل کیفیت محصولات، استاندارد نبوده و فرآورده‌های تولید شده کیفیت استاندارد را ندارند.

این فرآورده‌ها باید دور از نور و در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد، با احتیاط حمل و نگهداری شوند. در این شرایط، این فرآورده‌ها تا تاریخ انقضای مندرج بر روی لیبل آنها قابل استفاده می‌باشند. باقی‌مانده و ویال خالی این فرآورده‌ها، باید به طور صحیح سترون‌سازی (بوسیله اتوکلاو، سوزاندن و یا استفاده از مواد شیمیایی مناسب) شده و به صورت بهداشتی دفن شوند.

فهرست منابع

۱) فلاحی روزبه، منصوری محمد علی. بیولوژی، پرورش، بیماری‌ها و اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی، انتشارات مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، ۱۳۹۴.

۲) حاجی‌زاده افشین. مؤسسه رازی در گذر زمان، چاپ اول، انتشارات موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، ۱۳۹۴.

۳) پروتکل کمیته اخلاق در کار با حیوانات آزمایشگاهی. معاونت تضمین کیفیت، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، ۱۳۹۸.

۴) فلاحی روزبه. مقایسه دو روش تزریق داخل پوستی و داخل وریدی تولید همولیزین ضد گوسفندی در خرگوش آزمایشگاهی. نشریه دامپزشکی در پژوهش و سازندگی، شماره ۱۰۶، ۱۳۹۴، ص: ۷۱-۶۵.

5) UFAW Handbook on the care and management of laboratory and other research animals. 8th ed. Wiley-Blackwell; 2010.

6) Morgan BP. Complement methods and protocols. Humana Press; 2000.

7) Greenfield EA. Sampling and preparation of rabbit serum. Cold Spring Harbor Protocols 2020; doi:10.1101/pdb.prot100305.

8) Colbeck JC. Proom H. Dried rabbit plasma for the staphylococcus coagulase test. B.M.J. 1944; 7(2): 471-2.
doi: 10.1136/bmj.2.4370.471.

9) Koyama J. Nashimoto H. Immunological studies on rabbit hemolysin to sheep red cells. I. The electrophoretic separation of rabbit antisera to sheep red cells. Jpn. J. Exp. Med 1959; 29: 551-9.

10) Yeh E, Pinsky BA, Banaei N, Baron EJ. Hair sheep blood, citrated or defibrinated, fulfills all requirements of blood agar for diagnostic microbiology laboratory tests. PLoS ONE | www.plosone.org 2009; 4(7): e6141.

بیماری کزاز و نقش موسسه رازی در کنترل و پیشگیری از آن در ایران

مجتبی نوفلی[1]*، افشین حاجی‌زاده [2]

۱- عضو هیات علمی (دانشیار)، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات،آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۲- محقق، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات،آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

*نویسنده مسئول: مجتبی نوفلی noofeli1234@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴-۰۶-۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: ۲۹-۰۷-۱۴۰۲

چکیده

کزاز یک بیماری غیرواگیردار و مشترک بین انسان و دام است که علایم آن از ۵۰۰ سال قبل از میلاد، توصیف شده است. این بیماری بسیار جدی، خطرناک و کشنده است که هزاران انسان و دام را تا زمانی که راه حل درمانی و پیشگیری برای آن کشف نشده بود، به کام مرگ فرو برده است. اسپور کلوستریدیوم تتانی *C. tetani* (عامل بیماری کزاز) در محیط و به خصوص در خاک، گرد و غبار و دستگاه گوارش حیوانات وجود دارد و به طرق مختلف و از طریق زخم های نافذ[1] وارد بدن می‌گردد. نوروتوکسین کزاز با راه‌یابی به سیستم اعصاب مرکزی منجر به گرفتگی و اسپاسم‌های شدید عضلات شده که گاها موجب صدمات جدی نظیر شکستگی دنده‌ها، مهره‌ها و خفگی می‌گردد. با این حال رعایت بهداشت و واکسیناسیون، از راه‌های پیشگیری از این بیماری هستند. در بسیاری از کشورها به علت واکسیناسیون گسترده به ویژه در سنین باروری و در دوران بارداری، و نیز رعایت بهداشت، از میزان بروز کزاز در نوزادان (کزاز بند ناف) به نحو واضحی کاسته شده است به طوری که طی سال‌های اخیر این بیماری به ندرت از کشورهای توسعه‌یافته گزارش شده است. به همت و تلاش محققین و کارشناسان موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی و با تولید واکسن و سرم ضد کزاز انسانی و اسبی از سال ۱۳۲۱ در ایران، گام‌های ارزشمندی در کاهش و ریشه‌کنی این بیماری در انسان و دام برداشته شده است.

واژگان کلیدی

واکسن، کزاز بند ناف، کزاز بالغین، کزاز اسبی

1. Puncture wound.

بیان مساله و اهمیت موضوع

تاریخچه

شواهد و اسناد حاکی از آن است که مصریان باستان از ۱۵۰۰ سال قبل از میلاد به کزاز مبتلا می‌شده‌اند. مردم از دیرباز می‌دانستند که این بیماری به دلیل آلودگی خاص روی زخم‌های باز ایجاد می‌شود و روش‌هایی را برای درمان آن انجام می‌دادند. اولین تشریح این بیماری مربوط به قرن پنجم قبل از میلاد مسیح و توسط بقراط می‌باشد و عامل بیماری نیز توسط دو دانشمند ایتالیایی به نام‌های آنتونیو کارل[1] و جورجیو راتن[2] در ۱۸۸۴ میلادی بیان گردید. کزاز در اوایل قرن بیستم به طور کامل شناخته شد.

سبب‌شناسی و بیماری‌زایی

کزاز یک بیماری عصبی مشترک در انسان و حیوانات است که قابل انتقال (مسری) نیست و توسط نوروتوکسینی به نام (TeNT)، ایجاد می‌شود و باعث بروز فلج اسپاستیک مشخص می‌گردد. کلستریدیوم تتانی، باکتری عامل بیماری، خاکزی ، هاگ‌زا (اسپور) و محیطی است. عفونت و بیماری بالینی ناشی از آن، اغلب ناشی از آلودگی زخم با هاگ کلستریدیوم تتانی است (۱و ۲).

بر اساس مطالعات انجام شده بین سال‌های ۱۸۸۰ و ۱۹۲۰ مشخص شد که این بیماری، بر اثر ورود باکتری بی‌هوازی کزاز به زخم‌های عمیق (که محیط بی‌هوازی مناسبی را فراهم می‌کند) و بافت‌های نکروز شده و تولید نوروتوکسین، ایجاد می‌شود. حدود ۶۰٪ موارد بیماری در حیوانات از اواسط بهار تا اواخر تابستان و نیز به دنبال قطع دم، پشم چینی، اخته کردن و یا قطع گوش بروز می‌نماید.

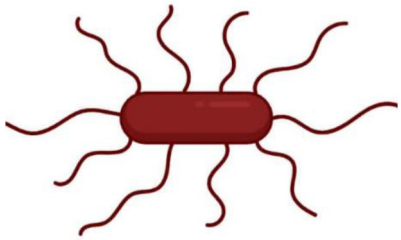
C. tetani یک نوروتوکسین به نام TeNT و یک همولیزین به نام تتانولیزین تولید می‌کند. تتانولیزین متعلق به خانواده سیتولیزین وابسته به کلسترول است که نمونه اولیه آن پرفرینگولیزین از *C. perfringens* است. سیتولیزین‌ها منافذ بزرگی را روی سطح غشای سلول‌های هدف تشکیل می‌دهند که منجر به الیگومریزاسیون ۴۰ تا ۷۰ منومر توکسین و آسیب به غشاء می‌شوند. تتانولیزین ممکن است کلونیزاسیون بافت موضعی و مقاومت در برابر ماکروفاژها را تسهیل کند.

هاگ‌های *C. tetani* قادر به رشد در بافت سالم یا حتی در زخم‌ها نیستند و شرایط مناسب برای تکثیر زمانی اتفاق می‌افتد که حضور اسپور، با نکروز بافتی و شرایط بی‌هوازی همراه باشد. باکتری‌ها، در بافت نکروزه و در محل اصلی عفونت باقی‌مانده و تکثیر می‌شوند. وقتی سلول‌های باکتریایی دچار اتولیز شوند، نوروتوکسین قوی TeNT از آنها آزاد می‌شود. TeNT به صورت موضعی در محل عفونت منتشر شده و به صورت برگشتی یا پس گرد[3] با پایانه‌های عصبی دمیلینه شده تداخل می‌نماید. TeNT با میل ترکیبی بالا به گانگلیوزیدها (ترجیحاً GT1b و GD1b) توسط ۲ محل اتصال کربوهیدرات در دامنه C ترمینال زنجیره H سم متصل می‌شود. TeNT پس از اتصال به گیرنده خود توسط اندوسیتوز وارد سلول‌های عصبی می‌شود و به صورت بالارونده از مسیر عصبی به سمت نخاع حرکت می‌کند و در آنجا باعث بروز کزاز صعودی می‌شود. TeNT از آزادسازی گلیسین و گابا ممانعت می‌کند بنابراین کنترل‌های منفی اعمال‌شده توسط نورون‌های بازدارنده بر روی نورون‌های حرکتی را مختل کرده، باعث تحریک بیش از حد نورون‌های حرکتی و بروز انقباضات اسپاسمودیک و قوی عضلات ارادی می‌شود.

مشخصات عامل بیماری

C. tetani یک باسیل گرم مثبت است که ۰/۶-۰/۳ میکرون عرض و ۱۲-۳ میکرون طول دارد. رنگ‌آمیزی گرم مثبت در کشت‌های جوان مشخص است، اما *C. tetani* می‌تواند رنگ گرم را در کشت‌های بیش‌تر از ۲۴ ساعت از دست بدهد. اکثر سویه‌های *C. tetani* دارای تاژک‌های پوشاننده سطح باکتری[4] هستند (تصویر شماره۲). هنگامی که تحت شرایط بی‌هوازی کشت می‌شوند، سویه‌های متحرک تمام سطح آگار را می‌پوشانند که منجر به تشکیل یک فیلم شفاف می‌شود.

با این حال، برخی از سویه‌های آن غیر تاژک‌دار و غیر متحرک هستند. هاگ‌های *C. tetani* گرد و انتهایی هستند و شکل مشخصی را ایجاد می‌کنند که معمولاً به آن چوب طبل[5] می‌گویند (تصویر شماره ۳). لازم به ذکر است که تشکیل هاگ با توجه به سویه متغیر است و در pH ≥ ۷ و در دمای نزدیک به ۳۷ درجه سانتی‌گراد، هاگ‌زایی در طی ۲۴ ساعت از زمان کشت شروع می‌شود و معمولاً برای ۴ تا ۱۲ روز ادامه می‌یابد. اسپورزایی در دمای بالای ۴۱ درجه سانتی‌گراد رخ نمی‌دهد و در pH < ۶ کند است. از طرفی اسپورزایی به ترکیب محیط کشت نیز بستگی دارد. هاگ‌ها معمولاً در حرارت متوسط (۷۵ تا ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه) زنده می‌مانند اما معمولاً در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در عرض ۱ ساعت از بین می‌روند.



تصویر شماره۲ – تاژک به فرم Peritrichous.

1. Antonio Carle.
2. Giorgio Ratton.
3. Retrograde.
4. Peritrichous flagella.
5. Drum stick.

دستاورد

علایم بالینی

بیماری کزاز اشکال مختلفی به نام های عمومی[6] ، نوزادی[7] موضعی[8] و نوع مغزی[9] دارد. نوع عمومی آن شایع‌ترین می‌باشد که در ۸۰ درصد موارد دیده می‌شود. علایم این نوع بیماری از بالا به پائین شروع می‌شود که اولین علامت قفل شدن فک[10] می‌باشد که در ادامه اسپاسم عضلات صورت، سفتی گردن، اشکال در بلع و سفتی عضلات سینه ای و اندام تحتانی را به همراه خواهد داشت (۲). علایم دیگر شامل تب، تعریق، افزایش فشار خون و گاها افزایش ضربان قلب خواهد بود. نوع نوزادی که شکلی از نوع عمومی در نوزاد است، به خاطر عدم واکسیناسیون مادر و عدم رعایت شرایط بهداشتی بر روی بند ناف ایجاد می گردد. کزاز نوزادی در سال ۱۹۹۸ مسئول حدودا ۱۴٪ (۲۱۵۰۰۰) مرگ و میرها در نوزادان در کشورهای در حال توسعه بوده است که این رقم به ۵۸۰۰۰ مورد در سال ۲۰۱۰ کاهش یافت. تا سال ۲۰۱۳ بالغ بر ۲۵ کشور از جمله ایران موفق به حذف این بیماری شدند (۱). در صورت واکسیناسیون مادر در طی سه ماهه سوم بارداری، ایمنی غیر فعال به جنین منتقل شده و باعث محافظت وی می گردد. در نوع موضعی کزاز که فرم غیر شایع بیماری است، انقباظات عضلانی در محل آناتومیک ضایعه ایجاد می‌شود که ممکن است به مدت چند هفته تا بهبود نهایی ادامه داشته باشد. این نوع کزاز خفیف‌تر بوده و مرگ و میر آن در حدود یک درصد می‌باشد. نوع مغزی یا سفالیک که نادرترین شکل بیماری است (حدود ۰,۹ تا ۳ درصد موارد)، به اعصاب و عضلات سر محدود شده و معمولا متعاقب ضربه به ناحیه سر مثل شکستگی‌های جمجمه، صدمات چشمی، له شدگی‌ها، کشیدن دندان و عفونت گوش میانی ایجاد می‌شود (۲). در این موارد، فلج عصب صورتی [11] شایع بوده که به صورت افتادگی پلک و فلج عضلات صورت همراه با قفل شدن فک (فلج زوج ۵ کرانیال) ظاهر می گردد. این نوع از کزاز نسبت به بقیه انواع آن کشنده‌تر است و با پیشرفت به سمت نوع عمومی، مرگ و میر آن به ۱۵ تا ۳۰ درصد می‌رسد (۳).

دوره کمون کزاز از یک تا چند هفته متغیر است اما معمولاً به طور متوسط ۱۴-۱۰ روز است. در ابتدا سفتی موضعی، اغلب شامل ماهیچه‌های ماستر (عضلات جوشی) و عضلات گردن، پا و ناحیه زخم عفونی، دیده می‌شود. سفتی عمومی حدود ۱ روز بعد مشخص شده و اسپاسم تونیک و افزایش حساسیت آشکار می گردد. سگ‌ها و گربه‌ها به دلیل مقاومت بالایشان

6. Generalized.
7. Generalized.
8. Generalized.
9. Generalized.
10. Generalized.
11. Generalized.

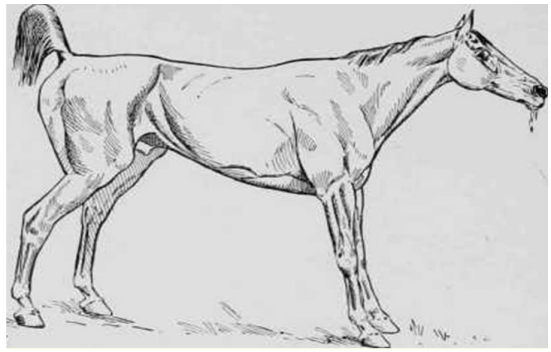
تصویر شماره۳- باسیل کزاز به شکل چوب طبل

در برابر سم کزاز، دوره کمون طولانی‌تری دارند و اغلب دچار کزاز موضعی می‌شوند. با این حال، کزاز عمومی در این گونه ها نیز ایجاد می گردد. عفونت‌های ناف از عوامل مستعدکننده رایج برای کزاز در نوزادان، به ویژه در بره‌ها و کره‌ها هستند.

کزاز در اسب‌های غیرواکسینه شایع است. اشکال مختلف کزاز را می‌توان در اسب مشاهده کرد. در شکل حاد، فلج اسپاستیک به سرعت از سر (عضلات جوشی، گوش، پلک سوم) به عضلات تنفسی و سپس به اندام‌های حرکتی گسترش می‌یابد که با تشنج عمومی و تعریق همراه است. مرگ ممکن است در عرض ۱ تا ۲ روز به دلیل نارسایی تنفسی رخ دهد. در اشکال تحت حاد، علائم در طی ۱ تا ۳ هفته ایجاد می‌شود. برخی از حیوانات ممکن است بهبود یابند. افزایش حساسیت (هایپراستزیا)[12] و بیرون زدگی پلک سوم از علائم اولیه شایع هستند (۵). خوردن و بلعیدن به دلیل فلج عضلات جوشی، دشوار است. منخرین اغلب باز هستند و گوش‌ها در حالت عمودی، محکم نگه داشته می‌شوند. عضلات گردن، پشت و دم به شدت منقبض می گردند، به طوری که دم اغلب به صورت عمودی بلند می‌شود. اندام‌های حرکتی سفت می‌شوند و سر در وضعیت کمانی (اپیستوتونوس[13]) قرار می گیرد. سفت شدن اندام‌های حرکتی باعث می‌شود

12. Generalized.
13. Generalized.

حیوان حالت "خرک"[14] به خود بگیرد (تصویر شماره ۴). نگاه اسب مضطرب و بیانگر درد است. صورت به دلیل قفل



تصویر شماره ۴- وضعیت خرک در اسب مبتلا به کزاز

شدن فک پائین (تریسموس[15]) سفت است. تنفس سریع و حرکات تنفسی دردناک است لکن نبض طبیعی است؛ اگرچه در طول حملات انقباضی کزاز، ضربان نبض و تنفس سریع‌تر می‌شود. بیشتر موارد با مرگ اسب خاتمه می‌یابد. در یک مطالعه گذشته نگر از ۱۷۶ مورد کزاز در اسب در اروپا بین سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۱۴، میزان مرگ و میر ۶۸,۲٪ بوده است. در کزاز موضعی، انقباضات عضلانی شدت کمتری دارند و به گروهی از ماهیچه‌ها مانند عضلات یک اندام محدود می‌شوند. این فرم می‌تواند چندین هفته طول بکشد و حیوانات می‌توانند بهبود یابند (۴).

اسپاسم عمومی عضلات، گردش خون و تنفس را مختل می‌کند که منجر به افزایش ضربان قلب، تنفس سریع و پرخونی غشاهای مخاطی می‌شود. انسان،گوسفندان، بزها و خوک‌ها اغلب روی زمین می‌افتند و اگر تکان داده شوند، اپیستوتونوس یا کمان پیکری از خود نشان می‌دهند (تصویر شماره ۵).

تصویر شماره ۵- اپیستوتونوس در انسان و بز مبتلا به کزاز

در این بیماری هوشیاری تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد. در سگ‌ها و گربه‌ها، کزاز موضعی اغلب به صورت سفتی در اندام دارای زخم ظاهر می‌شود. سفتی پیشرفت می‌کند تا اندام مقابل را درگیر کند و ممکن است به سمت اندام حرکتی قدامی پیش برود. در کزاز عمومی، اسپاسم عضلات صورت منجر به ایجاد ظاهری خنده گونه[16] با دهان نیمه باز و لب‌های عقب کشیده شده (همانطور که در انسان دیده می‌شود) خواهد شد (تصویر شماره ۶). به نظر می‌رسد سگ‌های جوان و نژاد بزرگ بیشتر تحت تأثیر این بیماری قرار می‌گیرند.

تصویر شماره ۶- ظاهری خنده گونه

معمولاً دمای بدن کمی بالاتر از حد طبیعی باقی می‌ماند، اما ممکن است در پایان یک حمله مرگبار به ۴۳-۴۲ درجه سانتی‌گراد برسد. در حملات خفیف، نبض و دمای بدن تقریباً طبیعی باقی می‌ماند. میزان مرگ و میر به طور متوسط ۸۰٪ است. در حیواناتی که بهبود می‌یابند، دوره نقاهت ۲ تا ۶ هفته‌ای وجود دارد. معمولاً پس از بهبودی، ایمنی محافظت کننده ایجاد نمی‌شود (۲).

تقریبا همه انسان‌ها و حیوانات، مستعد ابتلا به این بیماری هستند. اسب، خوکچه هندی، میمون، گوسفند، موش، انسان، بز و بره و بزغاله حساس‌ترین بوده و سگ، گربه و گاو تا حدی و پرندگان کاملا مقاوم هستند (دز کشنده برای کبوتر و جوجه‌ها بر اساس وزن بدن، ۳۰۰- ۱۰ هزار برابر دز کشنده در اسب می‌باشد). نکته جالب این است که حیوانات خونسرد[17] مانند قورباغه‌ها وقتی در دمای پایین (کمتر از ۱۸ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شوند، حتی با وجود مقادیر زیاد TeNT در مایعات بدنشان، در برابر مسمومیت با کزاز مقاوم هستند، اما زمانی که در معرض دماهای بالاتر (بیشتر از ۲۷ درجه سانتی‌گراد) قرار می‌گیرند، حساس می‌شوند. اثرات محافظتی سرما به تاخیر در سرعت اتصال TeNT به نورون‌های هدف و مهار عمل آن نسبت داده شده است.

14. sawhorse.
15. Trismus.
16. Risus Sardonicus.
17. Poikilothermic.

تشخیص

- از طریق انجام معاینات بالینی
- از طریق جداسازی، شناسایی و تایید وجود سم یا توکسین در بافت زخمی

تشخیص کزاز اساساً با شناسایی علائم فلج اسپاستیک مشخص می‌شود. تصویر بالینی کزاز مشابه مسمومیت با استریکنین است. با این حال، وجود یک زخم مشکوک می‌تواند به تشخیص و تفکیک کزاز کمک کند. از طرفی شروع علائم کزاز مانند سفتی در راه رفتن می‌تواند با میوپاتی اشتباه گرفته شود. کزاز کانونی در سگ می‌تواند توسط الکترومیوگرافی تشخیص داده شود.

علائم بالینی و سابقه ترومای اخیر معمولاً برای تشخیص بالینی کزاز کافی است. با این حال شناسایی TeNT اغلب دشوار است و معمولاً در نمونه‌های بیولوژیکی قابل تشخیص نیست. برای ایجاد علائم کزاز در حیوانات، سطوح بسیار پایین TeNT کفایت می‌کند. تشخیص TeNT در نمونه‌های سرم انسان یا حیوانات مبتلا به کزاز به ندرت گزارش شده است.

پیشگیری، درمان و کنترل

سرم ضد کزاز از بیش از دو دهه قبل از ساخت واکسن کزاز با تاثیرات چند هفته‌ای در سال ۱۸۹۰ میلادی ساخته شد. در سال ۱۹۲۳ الکساندر گلنی[18] برای غیر فعال‌سازی توکسین باکتری و تهیه واکسن کزاز، از فرمالدئید و حرارت استفاده کرد. پس از تهیه، واکسن برای اولین بار روی دو نفر تست شد که هیچ کدام به این بیماری مبتلا نشدند. این واکسن همچنین در جنگ جهانی دوم به سربازان آمریکایی تزریق گردید که منجر به کاهش ۹۵ درصدی در میزان رخداد کزاز و نجات جان بسیاری از این افراد شد. با این حال اولین واکسن توکسوئید کزاز در سال ۱۹۳۸ یعنی تقریبا ده سال بعد به صورت تجاری در دسترس عموم قرار گرفت. در اواسط دهه ۱۹۴۰، توکسوئید کزاز با توکسوئید دیفتری ترکیب شده و واکسن ترکیبی توام دیفتری- کزاز تولید شد. سال‌ها بعد نیز واکسن کشته سیاه سرفه به آنها اضافه گردید (واکسن دیفتری- کزاز- سیاه سرفه) که تا به امروز استفاده می‌شود (۱).

کزاز نوزادان به عنوان دومین بیماری کشنده عفونی قابل پیشگیری با واکسن، پس از سرخک شناخته می‌شود و حذف آن یکی از اولویت‌های سازمان جهانی بهداشت می‌باشد. خوشبختانه سال‌هاست که کزاز نوزادی در کشور ایران به همت محققین و تلاشگران عرصه تولید واکسن کزاز در موسسه تحقیقات واکسن وسرم‌سازی رازی به مرحله "حذف"[19] رسیده است (۱).

18. Glenny.
19. Elimination.

در موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی ساخت واکسن و سرم ضد کزاز انسانی از سال ۱۳۲۱ شمسی و نیز به همراه شاربن (سیاه زخم) در همان دهه ۲۰ برای مصارف دامپزشکی ساخته شد و مورد مصرف عام قرار گرفت. در ایران اگر چه برنامه رسمی برای واکسیناسیون سراسری از سال ۱۳۵۳ آغاز شد و پوشش سراسری آن به ۳۰ درصد تا قبل از ۱۳۵۷ رسید، ولی بعد از انقلاب و به خصوص در دهه ۶۰ با وجود شرایط نامساعد ناشی از جنگ تحمیلی، پوشش واکسیناسیون در ایران به‌تدریج افزایش یافت تا جایی که یونیسف اعلام کرد که ایران تنها کشوری است که در زمان جنگ شاخص‌های بهداشتی آن بهبود یافته است. طی این سال‌ها با افزایش واکسیناسیون علیه ۱۰ بیماری ویروسی و باکتریایی واگیردار از جمله کزاز در کودکان و مادران باردار به‌تدریج کزاز نوزادی کاهش یافت و ایران در سال ۱۳۷۹ جزو معدود کشورهایی شد که به مرحله حذف کزاز نوزادی رسید. میزان مرگ و میر این بیماری در دنیا از ۳۶۵۰۰۰ نفر در سال ۱۹۹۰ به ۲۰۹۰۰۰ مورد در سال ۲۰۱۵ کاهش یافت. بر اساس گزارشات سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۱۸ ، میزان مرگ و میر از کزاز در مقایسه با کل مرگ و میر در ایران، به ۳۱ مورد یعنی حدودا ۰/۰۱ ٪ و یا ۰/۰۴ در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر[20] رسید که ایران را در رتبه ۱۰۱ دنیا قرار داد. در سال ۲۰۱۲، مرکز کنترل و پیشگیری بیماری[21] توصیه کرد که زنان حامله، برای هر بار بارداری، در بین هفته‌های ۲۷ تا ۳۶ بارداری، واکسن Tdap[22] که حاوی واکسن‌های دیفتری با دز پائین، کزاز و سیاه سرفه فاقد سلولی را دریافت کنند. در سال ۲۰۱۹ نیز همین مرکز توصیه کرد که افراد می‌توانند واکسن Tdap یا Td حاوی واکسن‌های دیفتری با دز پائین و کزاز را به عنوان واکسن‌های تقویت‌کننده‌ی کزاز (بوستر یا یادآور)، هر ۱۰ سال یک بار استفاده نمایند. در انسان، توکسوئید هر ۱۰ سال یکبار تجویز می‌شود (حداقل سطح آنتی‌بادی محافظت‌کننده در انسان ۰/۰۱< IU/L است) (۲).

برای درمان در افرادی که زخم‌های آلوده داشته و کمتر از ۳ دز واکسن کزاز زده باشند، باید هم از واکسن و هم از ایمنوگلوبولین ضد کزاز[23] (تتابولین و یا در صورت عدم دسترسی از IVIG) بهره‌مند گردند (مطابق جدول شماره ۱). در این موارد، زخم باید تمیز شده و بافت‌های مرده برداشته شوند. برای کنترل اسپاسم عضلات بدن، می‌توان از شل‌کننده‌های عضلانی استفاده کرد و در موارد گرفتاری عضلات تنفسی باید از ونتیلاسیون مکانیکی استفاده نمود (۳).

واکسن کزاز اسبی نیز از دیرباز در موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تولید می‌گردد (شکل ۷) که مراحل تولید

20. Age adjusted death rate.
21. CDC.
22. Tetanus, Diphtheria & Acellular pertussis.
23. TIG = Tetanus Immune Globulin.

آن همچون واکسن کزاز انسانی تحت شرایط استاندارد صورت می‌گیرد. واکسن کزاز اسب تولید موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی به صورت ۱۰ دزی در ویال و یا تک دزی در آمپول‌های ۲ میلی‌لیتر حاوی ۳۲ Lf توکسوئید کزاز، حداکثر ۵ میلی‌گرم فسفات آلومینیوم بر حسب یون آلومینیوم و تیومرسال به عنوان نگهدارنده به میزان حداکثر ۲۰۰ میکروگرم می‌باشد. موارد مصرف این واکسن بر حسب

تصویر شماره ۷- واکسن کزاز اسب تولید موسسه رازی

دستورالعمل سازنده آن به شرح ذیل می‌باشد:
در کره اسب‌هایی که از مادر ایمن متولد شده‌اند ۳ تزریق به صورت تزریق اول در ۳ ماهگی، تزریق دوم در ۴ ماهگی و تزریق سوم در ۱۶ ماهگی صورت می‌گیرد. در کره اسب‌هایی که از مادر غیر ایمن متولد شده‌اند نیز ۳ تزریق به صورت تزریق اول در ۱ تا ۴ ماهگی و ۲ تزریق دیگر به فاصله ۴ هفته صورت می‌گیرد. واکسیناسیون در مادیان‌ها و اسب‌هایی که قبلاً واکسینه شده‌اند نیز در صورت آبستنی، تزریق یک دز واکسن در ماه آخر آبستنی (۴ تا ۶ هفته قبل از زایمان) انجام می‌گردد و سپس تزریق یاد آور نیز هر ۲ تا ۵ سال یک بار صورت می‌گیرد. اما در مادیان‌هایی که قبلاً واکسینه نشده‌اند به صورت ۲ تزریق به فاصله ۶-۴ هفته و تزریق سوم یک سال بعد از تزریق دوم (در صورت آبستنی، ۴ تا ۶ هفته مانده به زایمان دز سوم تزریق شود) و سپس تزریق یادآور ۲ تا ۵ سال یک بار انجام می‌پذیرد (۴ و ۵).

تصمیم‌گیری برای واکسیناسیون بره یا گوساله بستگی به شیوع بیماری در منطقه دارد. تمام حیواناتی که از کزاز بهبود یافته‌اند باید به طور مرتب واکسینه شوند. حیواناتی که از کزاز جان سالم به در می‌برند، ایمنی خوبی ایجاد نمی‌کنند و باید با توکسوئید کزاز واکسینه شوند.

مداخله اولیه برای درمان این بیماری شامل تمیز کردن زخم، تقویت سیستم ایمنی، تجویز آنتی‌توکسین تزریقی و شل‌کننده‌های عضلانی می‌باشد. در مراحل اولیه بیماری، تجویز داروهای کورایفرم، آرام‌بخش‌ها یا باربیتورات همراه با ۳۰۰/۰۰۰ واحد بین‌المللی آنتی‌توکسین کزاز، به صورت داخل وریدی، هر ۱۲ ساعت، در درمان اسب‌ها مؤثر بوده است (۴). در اسب‌ها با تزریق ۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی آنتی‌توکسین کزاز به طور مستقیم به فضای زیر عنکبوتیه از طریق سیسترنا مگنا نتایج خوبی به دست آمده است. چنین درمانی باید با تخلیه و تمیز کردن زخم‌ها و تجویز پنی‌سیلین یا آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف پشتیبانی شود. مراقبت مناسب در دوره حاد اسپاسم بسیار ارزشمند است. اسب را باید در یک اتاق ساکت و تاریک با وسایل تغذیه و آب خوری به اندازه‌ای بلند قرار داد تا امکان استفاده بدون پایین آوردن سر فراهم شود. استفاده از تسمه برای اسب‌هایی که در ایستادن یا بلند شدن مشکل دارند می‌تواند مفید باشد (۴).

درمان استاندارد کزاز در سگ‌ها شامل تزریق داخل

جدول شماره ۱- نحوه رویارویی با زخم ها به منظور مصون سازی علیه کزاز

سابقه واکسیناسیون	زخم های تمیز و کوچک		سایر زخم ها	
	Td (توام بزرگسال)	TIG	Td (توام بزرگسال)	TIG
نامشخص یا کمتر از ۳ نوبت	آری	خیر	آری	آری
۳ نوبت (۱)	خیر (۲)	خیر	خیر (۳)	خیر

۱- در کودکان کمتر از ۷ ساله، DTP و یا DTaP و یا در صورت ممنوعیت واکسیناسیون سیاه سرفه، DT (توام خردسال).
۲- در صورتی که بیش از ۱۰ سال از تزریق آخرین نوبت واکسن گذشته باشد، آری.
۳- در صورتی که بیش از ۵ سال از تزریق آخرین نوبت واکسن گذشته باشد، آری.

وریدی آنتی‌توکسین کزاز، پنی‌سیلین G (۲۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم به مدت ۷ روز)، آرام‌بخشی با دیازپام- اسپرومازین یا کلرپرومازین-فنوباربیتال، بستری شدن در بیمارستان در یک اتاق تاریک و ساکت، و درمان با مایعات داخل وریدی است. در سگ‌ها و گربه‌ها در تجویز داخل وریدی آنتی‌توکسین باید احتیاط کرد، زیرا آنتی‌توکسین اسب ممکن است باعث آنافیلاکسی در آنها شود. ترکیبی از کلرپرومازین و فنوباربیتال یا دیازپام ممکن است برای کاهش واکنش‌های بیش از حد و تشنج تجویز شود (۵).

ایمن‌سازی فعال را می‌توان هم زمان با تجویز سرم ضد کزاز انجام داد. اگر زخم خطرناکی پس از ایمن سازی ایجاد شود، باید یک تزریق دیگر توکسوئید برای افزایش آنتی‌بادی در گردش انجام شود. اگر دام بیمار قبلاً واکسینه نشده باشد، باید ۱۵۰۰ تا ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی یا بیشتر آنتی‌توکسین کزاز تجویز شود که معمولاً تا ۲ هفته محافظت غیرفعال را ایجاد می‌کند. واکسن توکسوئیدی باید به طور هم زمان با آنتی‌توکسین تجویز شود و پس از ۳۰ روز تکرار شود (۵).

توصیه ترویجی

اسپور کزاز قادر به رشد در بافت سالم و حتی بافت زخمی که دارای اکسیژن رسانی خوب باشد، نیست. برای رشد آن نیاز به وجود زخم عمیق با شرایط بی‌هوازی است، با این حال در موارد اخته کردن و قطع دم هم بروز می‌کند.

سم یا توکسین (زهرابه) کزاز از قوی‌ترین سموم بیولوژیک می‌باشد که بعد از توکسین بوتولینوم در رده دوم می‌باشد. با توجه به انتشار جغرافیایی این بیماری در نواحی گرم و مرطوب و به خصوص در نواحی روستایی و نیز ارتباط آن با سطح بهداشت و واکسیناسیون جامعه، تمرکز بر رعایت و نظارت موارد فوق به خصوص واکسیناسیون حداکثری در مناطق ذکر شده می‌تواند منجر به کاهشی چشمگیر در میزان بروز و شیوع در بین افراد و حیوانات (اسب) گردد. عدم کاربرد درمان‌های خانگی مثل استفاده از فضولات دام بر روی زخم‌ها که در برخی از مناطق روستایی ایران متاسفانه هنوز به کار برده می‌شود، سوراخ کردن گوش با وسایل غیر استریل، اقدام به سقط جنین و ختنه با وسایل غیر بهداشتی و غیر استریل که ناشی از عدم آگاهی به مسایل بهداشتی می‌باشد، می‌تواند به کاهش موارد تک‌گیر در کشور کمک کند. از این منظر نیاز به آموزش‌های مداوم در خصوص آگاهی به مسائل بهداشتی و آشنا نمودن افراد با حقوق بهداشتی در کنار واکسیناسیون، از ضرورت‌های مقابله با این بیماری می‌باشد.

در نوزادان، اقدامات بهداشتی خوب، به ویژه ضدعفونی کردن ناف، در پیشگیری از کزاز مهم است. تمامی جراحی‌های حیوانات باید با رعایت تکنیک‌های آسپتیک انجام شوند و پس از جراحی، باید در زمین تمیز، ترجیحاً مراتع چمن، منتقل شوند. لازم به ذکر است که ضدعفونی کننده‌های اکسید کننده مانند ید یا کلر به طور قابل اعتمادی هاگ‌ها را از بین می‌برند.

فهرست منابع

۱- وضعیت حذف کزاز نوزادان در جمهوری اسلامی ایران، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، اداره کل پیشگیری و مبارزه با بیماری‌ها، تاریخ انتشار آذرماه ۱۳۷۷.

۲- برنامه و راهنمای ایمن‌سازی، مصوب کمیته کشوری ایمن‌سازی، وزا رت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، چاپ اول، سال ۱۳۹۴.

۳- برنامه راهبردی کشوری ایمن‌سازی در جمهوری اسلامی ایران، ۱۳۹۶-۱۴۰۰، معاونت بهداشت- مرکز مدیریت بیماری‌های واگیر.

4- Michel R. Popoff, 2020, Tetanus in animals, J Vet Diagn Invest. 32(2):184–191.

5- Henry R. Stämpfli , Olimpo J. Oliver-Espinosa , 2022, Tetanus in Animals, Vet manual.

بیماری آنفلوانزای پرندگان و نقش موسسه رازی در کنترل و پیشگیری از آن در ایران

مهسا لاری بقال*[1]

کارشناس آزمایشگاه، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه جنوب غرب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران .

*نویسنده مسئول: مهسا لاری بقال mah.lari@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۱-۰۴-۱۴۰۲ تاریخ پذیرش:۳۰-۰۷-۱۴۰۲

چکیده

بیماری آنفلوانزای پرندگان نوعی بیماری ویروسی با گستردگی بالاست که بسته به سویه ویروس دستگاه تنفس، گوارش، عصبی و تولید مثل پرنده را می‌تواند تحت تاثیر قرار دهد. میزان ابتلا و تلفات ناشی از بیماری آنفلوانزای پرندگان در ماکیان بالا اما میزان ابتلا و تلفات در پرندگان آبزی متغیر است. بر اساس بیماری‌زایی ویروس‌های آنفلوانزا در ماکیان، این ویروس‌ها به دو دسته با بیماری‌زایی بالا (HPAI) و بیماری‌زایی کم (LPAI) طبقه‌بندی می‌شوند. پرندگان آبزی به عنوان مخزن تمام سویه‌های آنفلوانزای پرندگان شناخته شده اند و نسبت به سویه‌های با بیماری‌زایی بالا مقاوم هستند و نشانه‌های بیماری را نشان نمی‌دهند. این بیماری در سراسر جهان پراکنده است. بیماری آنفلوانزای پرندگان ناشی از سویه‌های با بیماری‌زایی کم، تا قبل از تولید واکسن، خسارات زیاد اقتصادی در مزارع پرورش به همراه داشته است. متداول‌ترین فناوری واکسن آنفلوانزای پرندگان، واکسن‌های غیرفعال است. در برخی کشورها به منظور کاهش تلفات و جلوگیری از خسارات اقتصادی، از واکسن‌های کشته روغنی علیه بیماری استفاده می‌شود. امروزه واکسن‌های آنفلوانزای طیور ساخت موسسه رازی به شکل واکسن غیرفعال روغنی آنفلوانزای طیور و واکسن دوگانه غیرفعال روغنی نیوکاسل-آنفلوانزای طیور در بازار موجود است که در پیشگیری و کاهش خسارات اقتصادی تاثیر گذار بوده‌اند.

واژگان کلیدی

آنفلوانزای پرندگان، کنترل و پیشگیری، موسسه رازی، واکسن غیرفعال روغنی

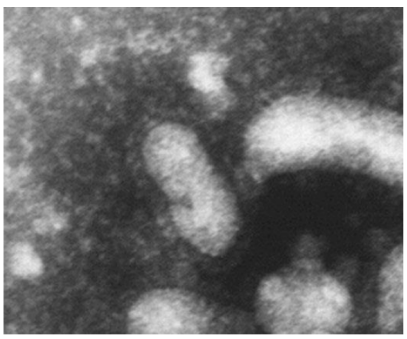
بیان مسئله واهمیت موضوع

بیماری آنفلوانزای پرندگان، بیماری ویروسی بسیار واگیردار است. بیماری اولین بار در سال ۱۸۷۸ میلادی شناخته شد و به نام طاعون مرغی نامگذاری گردید. ویروسی بودن عامل بیماری نخستین بار در سال ۱۹۰۱ میلادی شناخته شد. امروزه سازمان جهانی بهداشت حیوانات از اصطلاح ویروس‌های خیلی حاد آنفلوانزای پرندگان ((HPAI(High Pathogenicity Avian Influenza) و اصطلاح ویروس‌های کم حدت آنفلوانزای پرندگان ((LPAI Low Pathogenicity) Avian Influenza) برای عامل بیماری استفاده می‌کند. ویروس‌های آنفلوانزای پرندگان متعلق به خانواده اورتومیکسوریده هستند. خانواده اورتومیکسوریده ۵ جنس به نام آنفلوانزا ویروس‌های تیپ A، B، C،D، توگوتوویروس و آیزاویروس دارد. آنفلوانزای تیپ B و C عامل آنفلوانزای فصلی در انسان هستند و ندرتاً خوک و خوک آبی را مبتلا می‌کنند و از پرندگان جدا نشده اند. آنفلوانزای تیپ A انسان، خوک، اسب، گربه سانان، پرندگان وحشی و پرندگان اهلی را مبتلا می‌کند. ویروس‌های آنفلوانزای تیپ A به طور دائم بین جمعیت پرندگان، دام‌ها و انسان در گردش‌اند (۱۰-۳). بسیاری از گونه‌های پرندگان اهلی و وحشی میزبان ویروس آنفلوانزا هستند (۲) و تاکنون ویروس از ۹۰ گونه پرنده و ۱۳ راسته مختلف جدا شده است (۱).

ژنوم ویروس از جنس ریبونوکلئیک اسید، قطعه قطعه و متشکل از ۸ قطعه ژنی (PB1، PB2، PA، HA، NP، NA، MA و NS) است که ۱۰ پروتئین را در ویروس کد می‌کنند (۹). به دلیل قطعه قطعه بودن ژنوم ویروس آنفلوانزا، احتمال جهش و تغییرات ژنتیکی در جریان تکثیر ویروس زیاد است که در ویروس‌های آنفلوانزای تیپ A شایع‌تر از سه تیپ دیگر می‌باشد. طبقبندی جدایه‌های ویروس آنفلوانزا تیپ A براساس نوع هماگلوتینین (HA) و نورآمینیداز (NA) ویروس می‌باشد که بر این اساس امروزه ویروس‌های آنفلوانزای تیپ A از نظر HA در ۱۸ تحت تیپ و از نظر NA در ۱۱ تحت تیپ قرار می‌گیرند. مکانیسم حدت ویروس به مولکول هماگلوتینین بستگی دارد. هماگلوتینین تمام تحت تیپ‌های ویروس آنفلوانزای خیلی حاد پرندگان H5 و H7 هستند (۲). ویروس آنفلوانزا در محیط نسبتاً ناپایدار است. عواملی مانند گرما، pH شدید، شرایط هیپرتونیک، خشکی و نیز حلال‌های آلی و مواد شوینده ویروس را غیرفعال می‌کنند. پرندگان آلوده، ویروس را از راه مجاری بینی، دهان، ملتحمه چشم و مدفوع در محیط پخش می‌کنند و سبب آلودگی سایر پرندگان حساس می‌شوند (۱۰).

در آلودگی با ویروس‌های LPAI میزان ابتلا بالا و میزان تلفات پایین و معمولاً کمتر از ۵٪ است. در صورت وجود عفونت‌های ثانویه میزان تلفات افزایش می‌یابد. در سال ۱۹۹۹ در ایتالیا به دنبال شیوع آنفلوانزای LPAI، در جمعیت بوقلمون‌های کمتر از چهار هفته، به علت عفونت هم زمان به پاتوژن‌های ثانویه میزان تلفات به بالای ۹۷٪ رسید (۶). در آلودگی با ویروس‌های HPAI میزان تلفات ٪۸۹-۵۰ است و گاهی به ۱۰۰٪ هم می‌رسد. در سال ۲۰۱۷ در هلند، بیش از ۱۰۰۰ مورد تلفات در گله ۸۲۰۰ تایی از اردک‌های گوشتی (۵) و در سال ۲۰۱۵ در تایوان، تلفات بیش از ۹۰ درصدی در غازهای اهلی در اثر همه‌گیری ناشی از آنفلوانزای HPAI (تحت تیپ H5N3، H5N2 و H5N8) گزارش شده است (۷).

شیوع و خسارات اقتصادی ناشی از اپیدمی‌های LPAI یا HPAI عمدتاً در جوجه‌ها و بوقلمون‌ها رخ داده است. بیماری ناشی از سویه‌های LPAI و HPAI ویروس آنفلوانزا در پرندگان آبزی وحشی و اهلی غالباً بدون نشانه و یا با نشانه بالینی کمی همراه است. عفونت دستگاه تنفسی و وجود نشانه‌های خفیف تا شدید تنفسی در ماکیان و بوقلمون، تورم سینوس‌های زیر چشم در پرندگان اهلی، افزایش کرچی و کاهش تولید در مرغان تخم‌گذار و مادر از نشانه‌های ابتلا



تصویر شماره ۱- ذرات کروی تا پلئومورفیک ویروس آنفلوانزای A با برآمدگی سطحی هماگلوتینین و نورآمینیداز (۱۰)

به ویروس‌های LPAI است. در صورت ابتلای پرندگان به سویه‌های HPAI، در ماکیان معمولاً مرگ تنها نشانه بیماری است اما در صورت زنده ماندن پرنده، ممکن است اختلالات عصبی و افت شدید در تولید تخم در مرغان تخم‌گذار و مادر دیده شود.

در لاشه پرندگان تلف شده در اثر ابتلا به سویه‌های LPAI، التهاب کاتارال تا فیبرینی چرکی، ادم مخاط نای و وجود ترشحات در نای که گاهی منجر به انسداد نای و برونش‌ها می‌شود، التهاب کیسه‌های هوایی و در اثر ابتلا به سویه‌های HPAI، خونریزی‌های سر سوزنی در نقاط مختلف بدن (تصویر شماره ۲)، ادم اطراف چشم در پوست و در اندام‌های داخلی خونریزی در سطوح سروزی، خونریزی در اپیکاردیوم قلب، عضلات سینه، مخاط پیش معده (تصویر شماره ۳) و سنگدان و نقاط نکروزه در پانکراس (تصویر شماره ۴)، قلب و طحال دیده می‌شود (۱۰).

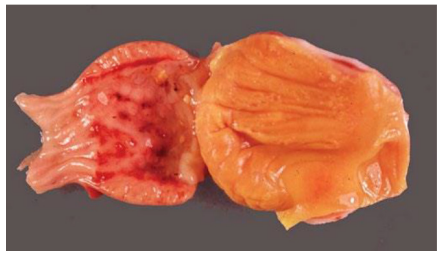
دستاورد

در کشور ما موارد مشکوکی از بیماری آنفلوانزای پرندگان با حدت کم ناشی از تحت تیپ H9N2 در سال ۱۳۷۶ دیده شد. بیماری در سال ۱۳۷۷ در منطقه یزد و مرغداری‌های اطراف تهران و قزوین به صورت بیماری ناشناخته بروز پیدا کرد و توسط دانشکده دامپزشکی و محققین موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی تائید شد (۴-۳) پس از آن در آبگرم و ملارد، غرب استان تهران و سایر مناطق کشور گسترش یافت و تلفات وسیعی را به دنبال داشت با این وجود به نظر می‌رسد بیماری قبل از این تاریخ نیز به شکل خفیف در کشور وجود داشته است (۲) و با نام طاعون مرغی با همه‌گیری بالا در مزارع پرورش ماکیان در سال ۱۳۳۳ گزارش شده است (۸).

نخستین مورد از تحت تیپ H5N1 آنفلوانزای پرندگان در طیور وحشی در کشور در سال ۲۰۰۶ گزارش شد. پس از آن در سال ۲۰۱۱ و ۲۰۱۵ در جمعیت پرندگان بومی و در سال ۲۰۱۶ در جمعیت طیور صنعتی گزارش شد (۲).

از آنجایی که بیماری آنفلوانزای پرندگان یک مشکل جهانی است، کنترل آن مستلزم تلاش‌ها و همکاری‌های بین‌المللی، ملی و استانی است (۱۰). موسسه رازی ظرفیت بالایی در خصوص شناسایی نمونه‌های ویروس این بیماری دارد. در سال‌های اخیر استفاده از واکسن‌های همولوگ غیرفعال، واکسن‌های هترولوگ غیرفعال و واکسن‌های نوترکیب برای ایمن‌سازی طیور در برابر بیماری ناشی از ویروس‌های آنفلوانزای پرندگان با حدت کم رواج یافته است (۳).

تصویر شماره ۲- نکروز مولتی فوکال در ریش، تاج و خونریزی شدید زیر جلدی پا (۱۰)



تصویر شماره ۳- خونریزی پتشیال مخاطی اطراف غدد پیش معده (۱۰)

تصویر شماره ۴: خونریزی و نکروز در پانکراس (۱۰)

متداول‌ترین فناوری واکسن آنفلوانزای پرندگان، واکسن‌های غیرفعال است که معمولاً با استفاده از سویه‌هایی که در منطقه شیوع پیدا کرده‌اند، ساخته می‌شوند. بیشتر ویروس‌های آنفلوانزای طیور جدا شده از مرغداری‌های ایران تا امروز متعلق به آنفلوانزای کم حدت H9N2 بوده است. توانمندی و ظرفیت علمی موسسه رازی برای ساخت واکسن آنفلوانزای پرندگان، در کنار اقدامات سازمان دامپزشکی و تحقیقات سایر محققین در کنترل بیماری آنفلوانزای پرندگان به خوبی موثر بوده است. محققین موسسه رازی از سویه H9N2 به عنوان سویه غالب در گردش در مزارع پرورش طیور برای ساخت واکسن غیرفعال شده آنفلوانزا استفاده می‌کنند. امروزه ساخت واکسن‌های آنفلوانزای طیور موسسه رازی در شعب این موسسه واقع در شیراز و مرند انجام می‌شود. این واکسن به شکل واکسن غیرفعال روغنی آنفلوانزای طیور (حاوی تحت تیپ غیرفعال شده آنفلوانزای طیور (H9N2) با منشا بومی) و واکسن دوگانه غیرفعال روغنی نیوکاسل-آنفلوانزای طیور (سروتیپ V4 نیوکاسل طیور و آنفلوانزای طیور تحت تیپ H9N2 با منشا بومی) در بازار موجود است. به دنبال شیوع بیماری آنفلوانزای کم حدت H9N2، از سال ۱۳۷۸ از واکسن‌های روغنی غیرفعال در ایران استفاده شد (۴). زمان تجویز واکسن با توجه به نظر دامپزشک، پس از تشخیص کاهش عیار آنتی‌بادی و در نظر گرفتن شرایط موجود در منطقه، در جوجه‌های گوشتی، مادر و تخم‌گذار، سن ۸ تا ۱۰ روزگی و دز یادآور در مرغ‌های مادر و تخم‌گذار در سن ۶ تا ۸ هفتگی و ۳ هفته قبل از شروع تخم‌گذاری توصیه می‌شود. واکسن‌های آنفلوانزای طیور ساخت موسسه رازی تا کنون در پیشگیری و کاهش خسارات اقتصادی ناشی از سویه‌های LPAI در کشور تاثیرگذار بوده‌اند (تصویر شماره ۵). مطالعات انجام شده توسط محققین مختلف نشان داده است که این واکسن در کاهش زمان انتشار سویه‌های LPAI ویروس آنفلوانزا تاثیر خوبی دارد و ایمنی مناسبی در جوجه‌ها در برابر سویه‌های در گردش موجود در مرغداری‌ها ایجاد می‌کند (۴). در بسیاری از کشورها از جمله ایران تا کنون واکسن موثری علیه سویه‌های HPAI استفاده نشده است (۳).

بیماری آنفلوانزای پرندگان از نظر اقتصادی، خسارات شدیدی برای مرغداری‌ها به همراه دارد. در حال حاضر، هیچ درمان عملی و خاصی برای آنفلوانزای پرندگان در طیور تجاری وجود ندارد اما به طور تجربی نشان داده شده است که آمانتادین در کاهش مرگ و میر ناشی از بیماری موثر است (۱۰). استفاده از این دارو در بلدرچین تلفات را به میزان ۵۰ درصد کاهش داده است. در بوقلمون نیز استفاده از آمانتادین و ریمانتادین در فرآیند درمان بیماری موثر بوده اما پرندگان عفونی باقی‌مانده و ویروس را در محیط انتشار داده‌اند. این دارو ها در پرندگانی که تخم یا گوشت آنها مصرف انسانی دارد نباید استفاده شوند (۳).

تصویر شماره ۵- تصویر سمت راست، واکسن دوگانه غیر فعال روغنی نیوکاسل-آنفلوانزای طیور و تصویر سمت چپ، واکسن غیر فعال روغنی آنفلوانزای طیور ساخت موسسه رازی

توصیه ترویجی

این بیماری از نظر بهداشت انسانی و ارتباط بین انسان-پرنده-خوک دارای اهمیت است. با وجود آنکه انتقال بین گونه‌ای ویروس به ندرت اتفاق می‌افتد اما امکان بالقوه انتقال بین گونه‌ای این بیماری را نباید نادیده گرفت (۳). علاوه بر شدت بیماری و تلفات ناشی از آن در مزارع پرورش، به علت ناپایداری ژنتیکی ویروس و احتمال به وجود آمدن موتاسیون‌های جدید، بهترین راه پیشگیری از بیماری، جلوگیری از ورود ویروس به مزارع و افزایش سطح ایمنی پرندگان است. به طور کلی؛ کنترل بیماری آنفلوانزای پرندگان بر پایه انجام اقدامات امنیت زیستی، تشخیص به موقع و نظارت توسط سازمان‌های مسئول، معدوم‌سازی مناسب لاشه‌های تلف شده ناشی از شیوع بیماری در مزارع پرورش، کاهش حساسیت میزبان از طریق انجام به موقع و مناسب برنامه واکسیناسیون مزارع پرورش و آموزش به صاحبان مزارع پرورش جهت انجام اقدامات لازم جهت جلوگیری از ورود بیماری به مزارع و اقدامات لازم در صورت بروز بیماری استوار

است (۱۰). همچنین یکی از جنبه‌های مهم در پیشگیری و کنترل بیماری، همکاری واحدهای مختلف در صنعت پرورش طیور و سازمان دامپزشکی به منظور اتخاذ تدابیر مناسب برای به حداقل رساندن خطر ورود و انتشار ویروس در مزارع و منطقه است. سیاست کلی سازمان دامپزشکی در صورت بروز آنفلوانزای فوق حاد پرندگان، ریشه‌کنی بیماری از طریق معدوم سازی گله است. بر این اساس برنامه ملی کنترل بیماری آنفلوانزای فوق حاد پرندگان که از سوی سازمان دامپزشکی کشور در سال ۹۷ ابلاغ شد شامل ۵ محور: اپیدمیوسورویلانس، معیارهای کنترلی، شبکه تشخیص، اطلاع‌رسانی و آموزش و ارزیابی و مراقبت بود. رعایت امنیت زیستی اولین اقدام پیشگیرانه است اما ضعف در سیستم‌های امنیت زیستی منجر به بروز عفونت در برخی مزارع می‌شود (۱۰). کنترل رفت و آمدها به مزارع پرورش، جداسازی پرندگان حساس از پرندگان آلوده و ترشحات آنها، نظافت و ضدعفونی مزارع پرورش، کاهش احتمال تماس طیور تجاری با پرندگان آبزی اهلی و وحشی از جمله اردک، اجتناب از واردات پرندگان از مناطق آلوده به کشور و جلوگیری از خرید و فروش پرندگان زنده در بازارهای روز منطقه‌ای در پیشگیری و کنترل بیماری موثر هستند با این وجود چنان چه گفته شد؛ از آنجایی که طیور همواره در معرض خطر ابتلا به ویروس آنفلوانزا هستند، افزایش مقاومت پرندگان در برابر عفونت برای شکستن چرخه عفونت ضروری به نظر می‌رسد. یکی از روش‌های افزایش مقاومت پرندگان در برابر بیماری آنفلوانزای پرندگان ناشی از سویه‌های با بیماری‌زایی کم استفاده از واکسن‌های موجود است که خوشبختانه موسسه رازی با تولید واکسن‌های بومی، جهت انجام اقدامات پیشگیرانه و کنترل اضطراری بیماری در سطح کشور بسیار تاثیر گذار بوده است.

فهرست منابع

۱. پورصفر، فاطمه؛ کریمی، وحید؛ چرخکار، سعید؛ قلیان چی لنگرودی، آرش؛ مقصودلو، حسین. پایش مولکولی تحت تیپ‌های ویروس آنفلوانزای پرندگان در اردک‌های بومی: یک مطالعه استانی. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۷ شماره ۴، ۱۳۹۱.

۲. فلاح مهرآبادی، محمدحسین؛ معتمد، نجمه؛ شوشتری، عبدالحمید؛ قلیانچی لنگرودی، آرش. مروری بر آنفلوانزای فوق حاد پرندگان در پرندگان وحشی غیرآبزی. نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی. دوره ۱۴ شماره ۱، ۱۳۹۷.

۳. میاحی، منصور. کتاب بیماری‌های ویروسی پرندگان. انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز. چاپ دوم. ۱۳۹۶.

۴. هوشمند، سمانه؛ مهربانپور، محمدجواد؛ رحمانیان، عبدالله. ارزیابی اثربخشی واکسن کشته روغنی آنفلوانزا ساخت موسسه رازی بر علیه جدایه‌های رایج ویروس آنفلوانزا در شیراز. مجله دنیای میکروب‌ها. سال ۳، شماره ۴، ۱۳۸۹.

5. Beerens N, Koch G, Heutink R, Harders F, Vries DPE, Ho C, et al. Novel highly pathogenic avian influenza A (H5N6) virus in the Netherlands, December 2017. Emerg Infect Dis. 2018; 24(4): 770-773.

6. Capua I, Mutinelli F, Marangon S, Alexander DJ. H7N1 avian influenza in Italy (1999 to 2000) in intensively reared chickens and turkeys. Avian Pathol. 2000; 29(6):537–543.

7. Chang CF, King CC, Wan ČH, Chang YC, Chan TC, David Lee CC, et al. Lessons from the largest epidemic of avian influenza viruses in Taiwan, 2015. Avian Dis. 2016; 60(1):156–171.

8. Shoushtari A, Hablolvarid MH, Vascellari M, Hedayati A. Mortality of wild swans. associated with naturally infection with highly pathogenic H5N1 avian influenza virus in Iran. Arch. Razi. 2008; 62(4): 207-213.

9. Suarez DL, Schultz Cherry S. Immunology of avian influenza virus: a review. Develop Comp Immunol. 2000; 24(2-3): 269-283.

10. Swayne DE, Suarez DL, Sims LD. In: Influenza. Editor: Swayne DE. Diseases of Poultry. 14th edition. Wiley-Blackwell. New Jersey. 2020; 210-256.

عقرب‌گزیدگی و نقش موسسه رازی در توسعه دانش فنی تولید پادزهر

فاطمه ثعلبی*

عضو هیات علمی(استادیار)، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه جنوب غرب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران.

نویسنده مسئول: فاطمه ثعلبی f.salabi@rvsri.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲-۰۶-۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲-۱۰-۱۰

چکیده

عقرب‌گزیدگی یک مشکل جدی بهداشت عمومی در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری از جمله ایران است که منجر به مرگ کودکان و افراد ناتوان می‌شود. تقریبا ۲۲۳۱ گونه عقرب در سراسر جهان یافت می‌شود اما تعداد کمی از آن‌ها برای انسان خطرآفرین می‌باشند. با این وجود، تعداد موارد عقرب گزیدگی در سراسر دنیا قابل توجه است. برای درمان عقرب گزیدگی از راهبردهای مختلفی از جمله استفاده از پادزهر، به‌ویژه برای بیماران با علائم شدید استفاده می‌کنند. در سال ۱۹۰۹ چارلز تاد تولید یک پادزهر علیه سم عقرب *Buthus quinquestriatus* را با ایمن‌سازی اسب‌ها با سم خام به‌عنوان آنتی‌ژن، شرح داد. براساس کار تاد، محققان در سراسر جهان شروع به تولید پادزهر با استفاده از همان رویکرد کردند. در ایران نیز در سال ۱۳۵۱، اولین پادزهر عقرب گزیدگی با استفاده از زهر ۶ گونه از خطرناک‌ترین عقرب‌ها و با جداسازی ایمونوگلوبولین G (IgG) توسط موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تولید گردید. علی‌رغم دستیابی به نتایج رضایت بخش با استفاده از این رویکرد، محققان در حال مطالعه روی رویکردهای جایگزینی برای تولید پادزهر عقرب گزیدگی هستند ولی هیچ یک از این رویکردهای جدید تاکنون به مرحله تولید انبوه نرسیده است.

واژگان کلیدی

عقرب گزیدگی، پادزهر، ایمونوگلوبولین، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی

بیان مسئله و اهمیت موضوع

پس از مارگزیدگی، نیش عقرب منبع اصلی گزش انسان در سراسر جهان است (۱). تاکنون در بسیاری از اکوسیستم‌های زمینی در سطح جهانی حدود ۲۲۳۱ گونه عقرب، در ۲۰۸ جنس و ۲۰ خانواده شناخته شده است که ۵۰ گونه عقرب که اکثرا متعلق به خانواده بوتیده هستند، از نظر پزشکی دارای اهمیت هستند. از این تعداد، ۶۸ گونه از ۱۹ جنس متعلق به سه خانواده بوتیده (Buthidae)، اسکورپیونیده (Scorpionidae) و همی‌اسکورپیده (Hemiscorpidae) در ایران ثبت شده است (۲). از بین این گونه‌های شناخته شده عقرب، تنها چند گونه انسان را تهدید می‌کنند. با این حال، عقرب‌گزیدگی به‌عنوان یک مشکل بهداشتی قابل توجه در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری از جمله ایران محسوب می‌شود که در برخی از موارد (بیشتر کودکان و افراد ناتوان) سبب مرگ نیز می‌گردد. آمار عقرب گزیدگی در دنیا حدود ۱/۲ میلیون نفر در سال گزارش شده که از این تعداد حدود ۳۲۵۰ مورد، منجر به مرگ و میر می‌گردد (۳). در کشور ایران سالانه حدود ۵۰/۰۰۰ مورد عقرب گزیدگی با حدود ۵۰ نفر فوتی گزارش شده است که بیش‌ترین آمار عقرب گزیدگی مربوط به استان خوزستان و ناشی از گزش با گونه‌های جنس *Androctonus* و *Hemiscopius* است (۱-۹).

مطالعات نشان داده که عوارض عقرب‌گزیدگی و شدت آثار بالینی آن‌ها به عوامل متعددی از جمله؛ سبک زندگی افراد، وضعیت مسکن، خدمات بهداشتی، گونه‌های موجود در هر منطقه جغرافیایی، دفعات و میزان زهر تزریق شده به فرد آسیب دیده، زمان مراجعه‌ی فرد به اورژانس، وضعیت سلامتی، سن و وزن فرد عقرب گزیده بستگی دارد (۱). در برخی موارد، عقرب گزیدگی فقط با درد و تورم موضعی همراه است که در این صورت به اقداماتی مانند کمپرس سرد و مراقبت از زخم اکتفا می‌شود درحالی‌که تعدادی از گونه‌های عقرب مسمومیت‌های قابل توجهی ایجاد می‌کنند. در زیر به برخی از عوارض گزش با عقرب‌های آندروکتونوس کراسی‌کودا و همی‌اسکورپیوس‌لپتروس به عنوان خطرناک‌ترین عقرب‌های کشور اشاره می‌شود (۸).

عوارض گزش با عقرب همی‌اسکورپیوس‌لپتروس

عقرب همی اسکورپیوس لپتروس (تصویر شماره C۱) عامل اصلی بسیاری از مرگ ومیرهای ناشی از عقرب گزیدگی در استان خوزستان وهرمزگان است (۲). این عقرب یکی از مهم‌ترین گونه‌های پزشکی از نظر علائم بالینی است (۹). تظاهرات بالینی *H. lepturus* بسیار گسترده و متفاوت است. این علائم هم به صورت موضعی و هم به صورت سیستمیک بروز می‌کنند. برخلاف سایر عقرب گزیدگی‌ها، بسیاری از افراد گزیده شده با این عقرب به ویژه بزرگسالان، در ۲۴ تا ۷۲ ساعت اول وضعیت عمومی طبیعی دارند و ممکن است هیچ علامتی نداشته باشند. تظاهرات بالینی در بیمار به‌تدریج یا با هم به مدت ۲ تا ۷ روز پس از گزش مشاهده می‌شوند (۲). دلیل این امر جذب آهسته سم و همچنین عدم احساس درد در موقع گزش، به دلیل وجود پروتئین ضد درد به نام لپتوسین در زهر این عقرب (۱) است که موجب شده علائم موضعی یا سیستمیک در قربانیان قابل پیش‌بینی نباشند.

عوارض گزش با عقرب آندروکتونوس کراسی‌کودا

زهر عقرب *Androctonus crassicauda* (تصویر شماره D۱) حاوی پپتیدهای نوروتوکسیک است به همین دلیل اولین علائم گزش با این عقرب شامل درد و سوزش در محل گزش است (۶ و ۱۰). علائم عمومی مشاهده شده پس از گزش با این عقرب شامل: بی‌قراری، سرگیجه، بیهوشی، خواب آلودگی، حرکت سریع، ناگهانی و غیرارادی چشم‌ها، افزایش ترشح غدد برون ریز (غدد عرق، غدد اشکی، غدد بزاقی)، افزایش دفعات مدفوع و ادرار هستند (۲). علائم بالینی مانند درد شدید، بی‌حسی اندام نیش‌دار، درد شکم، نشت مایع مغزی نخاعی به بیرون (رینوره)، ترشح بیش از حد بزاق، تند تپشی، تند نفسی، نبض رشته‌ای، کاهش رفلکس‌های تاندون، افت فشار خون، تشنگی شدید، استفراغ خونی، استفراغ کف‌آلود، کما و مرگ در قربانیان گزیده شده با این عقرب مشاهده شده است (۱ و ۲).

در مورد عوارض ناشی از گزش با عقرب‌های *Hottentotta saulcyi* (تصویر شماره A۱)، *Hottentotta schach* (تصویر شماره B۱) و *Odontobuthus doriae* (تصویر شماره F۱) اطلاعات کافی وجود ندارد. عقرب ادنتوبوتوس پراکندگی جغرافیایی کمی در دنیا دارد و تحقیقات چندانی در مورد عوارض و پیامدهای گزش این جانور خطرناک در ایران صورت نگرفته است (تصویر شماره F۱). نیش این عقرب تا حدودی شبیه به نیش *Androctonus crassicauda* است. بلافاصله در محل گزش درد شدید و طاقت‌فرسا مشاهده شده است بطوری‌که بی‌حس کننده‌های موضعی تاثیری در کاهش درد ندارند. تظاهرات بالینی غیر از درد شامل بی‌قراری و انقباضات شدید عضلانی است که ناشی از افزایش ترشح استیل کولین است (۲). زهر عقرب *Mesobuthus eupeus* (تصویر شماره E۱) بر سیستم عصبی تأثیر می‌گذارد و پاسخ‌های سمپاتیک و پاراسمپاتیک را تحریک می‌کند (۲). نیش این عقرب باعث درد شدید تا متوسط در اطراف محل نیش می‌گردد. زمانی که عقرب‌گزیدگی رخ می‌دهد، درد تنها دلیل مراجعه بیمار به پزشک و درخواست کمک پزشکی است. بنابراین، شناخت علائم موضعی و سیستمیک و تفاوت آن‌ها در بیماران مختلف در مناطق پرخطر ضروری است. ثابت شده که استفاده از پادزهر در درمان عقرب‌گزیدگی میزان مرگ

تصویرشماره ۱- شش گونه عقرب مورد استفاده در تولید پادزهر عقرب گزیدگی موسسه رازی. به ترتیب شامل عقرب‌های *(A Hottentotta saulcyi, (B Hottentota schach,(C Hemiscorpius lepturus,Androctonus crassicauda (D ,(E Mesobuthus eupeus* و (*F Odontobuthus doriae*) می‌باشند

و میر آن را تقریبا به صفر می‌رساند.

دستاورد

اولین پادزهر عقرب گزیدگی در سال ۱۹۰۹ با ایمن‌سازی اسب‌ها علیه سم عقرب *Buthus quinquestriatus* بومی کشور مصر، توسط tim تولید شد (۷). در آن زمان، روش سم‌گیری از عقرب‌ها معمولا قطع غدد زهر و عصاره‌گیری از آن‌ها بود. به دلیل عدم خلوص سم استخراج شده، تزریق زهر به حیوانات با علائم مسمومیت مختلفی از جمله: درد در محل تزریق، اسهال، ترشح بزاق، تعریق و کزاز همراه بود. به همین منظور برای به‌حداقل رساندن علائم مسمومیت حیوانات مورد استفاده جهت تولید پادزهر، زهر استخراج یافته را قبل از تزریق با ید مخلوط می‌کردند. پس از آن، Maurano در سال ۱۹۱۵ اولین پادزهر برزیلی را علیه سم *Tityus bahiensis* با توسعه روش تاد تولید کرد. با این حال، آنتی ونوم تولید شده دارای فعالیت خنثی‌کنندگی ضعیفی بود. تا اینکه Vilela و همکاران در سال ۱۹۱۷ اولین پادزهر موثر برزیلی را در اسب‌ها علیه سم عقرب تولید کرد. این محققین برای تولید پادزهر از زهر عقرب *T. serrulatus* که دارای زهر سمی‌تری نسبت به گونه *T. bahiensis* بود استفاده کردند. در سال ۱۹۱۸ تولید پادزهر علیه گونه‌های Tityus برزیلی در مقیاس بزرگ انجام شد. نسل اول پادزهرها تنها از پلاسمای خون بدون سلول تولید شد. در سال ۱۹۲۷، برای استفاده از پادزهر تولیدی در انسان، ایمونوگلوبولین‌ها از پلاسمای اسب خالص‌سازی شدند. فرمول‌های متشکل از آنتی‌بادی‌های خالص‌شده دارای سطوح پایین‌تری از آلودگی (یعنی پروتئین‌های خون موجود در پلاسما یا سرم) بودند و در نتیجه از ایجاد برخی از عوارض جانبی مرتبط با

سروتراپی جلوگیری می‌کردند (۷).

تولید پادزهر چند ظرفیتی عقرب گزیدگی در کشور اولین بار در سال ۱۳۵۱ توسط موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی (تصویر شماره ۲) به دنبال ایمن سازی اسب‌ها علیه زهر ۶ گونه (عقرب‌های *Androctonus crassicauda*، *Hottentotta saulcyi*، *Mesobuthus eupeus*، *Odontobuthus doriae*، *Hottentota schach* و *Hemiscorpius lepturus*) از خطرناک‌ترین گونه عقرب‌هایی که بیش‌ترین تهدید را برای سلامت جامعه انسانی دارند و با جداسازی ایمونوگلوبولین G (IgG) انجام شد. مراحل تولید پادزهر که به ترتیب شامل؛ جمع‌آوری عقرب‌ها، سم‌گیری از عقرب‌ها (تصویر شماره ۳)، خشک کردن زهر، افزودن ادجوانت فروند (کامل و ناقص)، تولید آنتی‌ژن مورد نیاز با فرموله کردن زهر ۶ گونه عقرب، ایمن‌سازی اسب‌ها، خونگیری از اسب‌ها، جداسازی پلاسما و تصفیه و تخلیص آنتی‌بادی‌های اختصاصی زهر هستند تماما در موسسه رازی و توسط متخصصین این مرکز انجام می‌گیرد.

موسسه رازی برای تولید پادزهر عقرب گزیدگی از رویکردی استفاده می‌کند که تولید پادزهر را در سراسر جهان بهبود بخشیده است. در این رویکرد برای از بین بردن بیشتر علائم مرتبط با سروتراپی، آنتی‌بادی‌های خالص‌شده در معرض آنزیم پپسین قرار می‌گیرند تا قطعات Fab تولید شود. قطعات Fab علاوه بر خنثی‌سازی زهر، اثرات نامطلوب ناشی از واکنش بدن انسان به آنتی‌بادی بیگانه اسب را نیز به حداقل می‌رساند. درحال حاضر بخش تصفیه سرم‌های درمانی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی واقع در کرج و اهواز با تولید سالیانه حدود ۲۰۰-۱۵۰ هزار آمپول ۵ میلی‌لیتری پادزهر درمانی عقرب گزیدگی نقش موثری در پیشگیری از مرگ و میر ناشی از عقرب گزیدگی در کشور ایفا می‌نماید (تصویر شماره ۲). البته ظرفیت تولید کنونی موسسه بیش از این میزان است و تولید بر اساس نیاز کشور انجام می‌گردد. در صورت فراهم شدن امکان صادرات این فرآورده به کشورهای همسایه، موسسه قادر به افزایش ظرفیت تولید پادزهر عقرب گزیدگی خواهد بود.

موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی به‌عنوان بزرگترین مرکز تولید پادزهر عقرب و مارگزیدگی در کشور عهده‌دار تحقیقات گسترده در این زمینه نیز می‌باشد. سالیانه تعداد زیادی طرح تحقیقاتی جهت توسعه پادزهر تولیدی و استفاده از روش‌های جدید در تولید پادزهر انجام

تصویر شماره ۲- ایمونوگلوبولین چندظرفیتی ضد زهر عقرب و مار موسسه رازی

می‌گردد که نتیجه آن علاوه بر بهبود پادزهر، چاپ مقالات در نشریات معتبر دنیا است که باعث شده علاوه بر صادرات پادزهر عقرب گزیدگی، موسسه رازی در انتقال دانش فنی تولید این فرآورده بیولوژیک به کشورهای همسایه نیز پرچم دار باشد.

شناسایی گونه‌های مختلف عقرب و ترکیبات سازنده زهر آن‌ها از دستاوردهای دیگر موسسه رازی محسوب می‌شود. اولین اقدام جهت شناسایی و دسته‌بندی گونه‌های مختلف عقرب ایران توسط دکتر فرزانپی و همکاران در موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی انجام گردید که حاصل آن چاپ کتابی به نام عقرب شناخت در سال ۱۳۶۶ بود. در زمینه شناسایی ترکیبات زهر نیز طرح‌های تحقیقاتی زیادی در موسسه رازی انجام شده و مقالات زیادی منتشر شده است. در این مطالعات گزارش شده که زهر عقرب از غلظت‌های مختلفی از پروتئین‌های سمی از جمله نوروتوکسین، کاردیوتوکسین، نفروتوکسین، سم همولیتیک، مولکول‌های با وزن مولکولی نسبتا کم و آنزیم‌هایی مانند فسفودی استرازها، فسفولیپازها، هیالورونیدازها و گلیکوزان‌ها تشکیل شده است (۶) که برخی از اجزای زهر خواص درمانی مانند ضد سرطان، ضد میکروبی، ضد صرع، ضد درد و ضد مالاریا داشته و برخی دیگر باعث ایجاد مسمومیت و عوارض پس از گزش در انسان می‌گردد (۶). بنابراین شناسایی اجزای زهر که آثار درمانی یا پاتوبیولوژیکی دارند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. تحقیقات زیادی در زمینه شناسایی خواص درمانی یا آثار پاتوبیولوژیکی اجزای زهر نیز انجام شده است. در چندین مطالعه، نوروتوکسین‌ها، پروتئین‌هایی از زهر که روی کانال‌های یونی (مانند کانال‌های سدیم، پتاسیم، کلسیم و کلرید) عمل می‌کنند، به‌عنوان سمی‌ترین اجزای زهر عقرب شناخته شده‌اند که عامل ایجاد بسیاری از عوارض عقرب گزیدگی هستند. با این حال، در برخی از مطالعات آنزیم‌های موجود در زهر مانند هیالورونیدازها، پروتئازها و فسفولیپازها به‌عنوان عامل ایجاد برخی از علائم مرتبط با مسمومیت با زهر عقرب معرفی شده‌اند (۶). یکی دیگر از دستاوردهای بزرگ موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی راه‌اندازی زیست بوم‌های طبیعی برای نگهداری مجموعه حیوانات سمی می‌باشد. راه‌اندازی مرکز پایلوت تکثیر و نگهداری جانوران سمی علاوه بر تامین زهر مورد نیاز برای مطالعات بیولوژیکی زهر، تضمین کننده تامین زهر کافی در فواصل زمانی طولانی‌تری برای تولید پادزهر مورد استفاده در درمان مسمومیت انسانی می‌باشد. علاوه بر پروتکل‌های معمول که از زهر خام به‌عنوان آنتی‌ژن استفاده می‌کنند، رویکردهای جدیدتری با استفاده از زهر سم‌زدایی شده، سموم نوترکیب یا پپتیدهای سنتز شده برای بهبود کارایی پادزهر ایجاد شده است. با این حال، تا آنجا که ما می‌دانیم، هیچ یک از این ایمونوژن‌ها تا به امروز در تولید پادزهر تجاری استفاده نشده‌اند.

تصویر شماره ۳- جمع‌آوری عقرب‌ها و استحصال سم به روش شوک الکتریکی

توصیه ترویجی

هدف از درمان عقرب گزیدگی مبارزه با علائم با استفاده از مسکن‌ها و سروتراپی است. بر اساس مطالعات انجام شده بهترین و مفیدترین راه درمان عقرب گزیدگی استفاده از پادزهر می‌باشد. پادزهر فقط باید توسط پزشکان در بیمارستان به صورت داخل وریدی تجویز شود. علائم حیاتی بیمار باید دائماً کنترل شود و هرگونه تغییر در وضعیت بالینی بیمار که نیاز به مداخله پزشکی دارد باید به سرعت توسط کادر پزشکی آموزش دیده انجام شود. اثربخشی درمان با فاصله زمانی که بین گزش و تجویز پادزهر سپری می‌شود ارتباط مستقیمی دارد. لذا در صورت عقرب گزیدگی انتقال سریع فرد آسیب دیده به نزدیک‌ترین مرکز درمانی که امکان تزریق پادزهر در آنجا وجود دارد باید در اولویت باشد. بریدن، مکیدن، سوزاندن یا داغ کردن محل گزش توصیه نمی‌شود. حفظ آرامش و خونسردی در مصدوم و کمک کنندگان به او الزامی است زیرا آرامش فرد باعث کندتر شدن جذب زهر می‌شود. آسیب دیده باید هرچه سریع‌تر به مرکز درمانی مجهز انتقال یابد. در حین انتقال باید تاحد امکان از حرکت دادن اندام آسیب دیده خودداری شود؛ زیرا هرگونه افزایش حرکت یا انقباضات عضلانی باعث انتشار سم از محل گزیدگی و افزایش جذب سیستمیک آن می‌شود. قبل از انجام کمک‌های اولیه، باید محل حادثه جهت جلوگیری از گزش مجدد ارزیابی و تا رسیدن وسیله نقلیه، مصدوم از محل حادثه دور گردد.

فهرست منابع

1. Bagheri-Ziari S, Shahbazzadeh D, Sardari S, Sabatier JM, Pooshang Bagheri K. Discovery of a new analgesic peptide, leptucin, from the iranian scorpion, Hemiscorpius lepturus. Molecules. 2021; 26(9), 2580.

2. Dehghani R, Ghorbani A, Varzandeh M, Karami-Robati F. Toxicity mechanism of dangerous scorpion stings in Iran. Journal of arthropod-borne diseases. 2023; 17(2), 105.

3. Sanaei-Zadeh H, Marashi SM, Dehghani R. Epidemiological and clinical characteristics of scorpionism in Shiraz (2012-2016); development of a clinical severity grading for Iranian scorpion envenomation. MJIRI. 2017; 31(27): 1-9.

4. Salabi F, Jafari H, Navidpour S, Sadr AS. Systematic and computational identification of Androctonus crassicauda long non-coding RNAs. Scientific reports. 2021; 11(1): 4720.

5. Salabi F, Jafari H. Differential venom gland gene expression analysis of juvenile and adult scorpions Androctonus crassicauda. BMC genomics.2022; 23(1): 636.

6. Salabi F, Jafari H. New insights about scorpion venom hyaluronidase; isoforms, expression and phylogeny. Toxin reviews. 2023; 42(1): 69-84.

7. Carmo AO, Chatzaki M, Horta CC, Magalhães BF, Oliveira-Mendes BB, Chávez-Olórtegui C, Kalapothakis E. Evolution of alternative methodologies of scorpion antivenoms production. Toxicon. 2015; 97:64-74.

8. Baradaran, M., Salabi, F. Genome-wide identification, structural homology analysis, and evolutionary diversification of the phospholipase D gene family in the venom gland of three scorpion species. BMC Genomics 24, 730 (2023).

9. Baradaran M, Jalali A, Jolodar A. Molecular diagnosis of Wolbachia endosymbiont from Iranian scorpion Hemiscorpius lepturus using polymerase chain reaction (PCR) amplification of 16S rDNA gene. African Journal of Biotechnology. 2011; 10(85), 19802-19206.

10. Boghozian A, Nazem H, Fazilati M, Hejazi SH, Sheikh Sajjadieh M. Toxicity and protein composition of venoms of Hottentotta saulcyi, Hottentotta schach and Androctonus crassicauda, three scorpion species collected in Iran. Veterinary Medicine and Science. 2021; 7(6), 2418-2426.

بیماری برونشیت عفونی پرندگان و نقش موسسه رازی در پیشگیری از آن

شهین مسعودی[1]*، مسعود مقدم پور[2]، شهلا شاهسوندی[1] ، لیلا پیشرفت ثابت[2]

۱- عضو هیات علمی (دانشیار)، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات،آموزش و ترویج کشاورزی،کرج،ایران.

۲- عضو هیات علمی (استادیار)، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات،آموزش و ترویج کشاورزی،کرج،ایران.

* نویسنده مسئول: شهین مسعودی s.masoudi@rvsri.ac.ir

تاریخ دریافت: ۲۴-۱۱-۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: ۲۵-۰۱-۱۴۰۳

چکیده

برونشیت عفونی (IB) یک بیماری حاد ویروسی و فوق‌العاده مسری در ماکیان می‌باشد که با واگیری معمولا تا ۱۰۰ درصد و تلفات از صفر تا ۸۰ درصد که بسته به سن پرنده، وضعیت ایمنی، سویه ویروس، و آلودگی با پاتوژن‌های ثانوی متغیر است. عامل بیماری یک گاما کرونا ویروس است که در طیور صنعتی اکثر کشورها شایع بوده و موجب بروز زیان‌های اقتصادی سنگینی به این صنعت می گردد. پیشگیری وکنترل بیماری برونشیت عفونی، بر رعایت دقیق اصول امنیت زیستی و استفاده از واکسن استوار است. در طیور صنعتی استفاده از واکسن‌های زنده تخفیف حدت‌یافته در اکثر کشورهای جهان متداول است. در ایران بین سال‌های ۱۳۴۲ الی ۱۳۴۹ وجود ویروس برونشیت عفونی در نمونه‌های ارسالی به موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی به اثبات رسید. بیماری سال‌هاست در مرغداری‌های ایران شایع می‌باشد. موسسه رازی با تولید واکسن‌های برونشیت سویه‌های H-120 و IB12IR همچنین واکسن‌های زنده دوگانه نقش کلیدی در کنترل این بیماری در کشور ایفا می کند. که با روش‌های اسپری، قطره چشمی و آشامیدنی استفاده می‌شوند موسسه رازی سهم عمده‌ای از بازار این چهار نوع واکسن را در اختیار دارد و با تولید آن‌ها علاوه بر کاهش موارد وقوع بیماری در کشور به خروج ارز و صرفه‌جویی ارزی کمک شایانی می گردد.

واژگان کلیدی

واکسن، بیماری برونشیت عفونی، پیشگیری، موسسه رازی

بیان مسئله و اهمیت موضوع

برونشیت عفونی طیور یک بیماری حاد ویروسی و فوق‌العاده مسری در ماکیان می‌باشد که با واگیری شدید در تمام سنین آن‌ها تظاهر می‌یابد در پرندگان تخمگذار برونشیت منجر به کاهش تولید تخم‌مرغ و همچنین کیفیت آن می‌شود و برخی از انواع ویروس برونشیت باعث نفریت بینابینی می‌شوند. عفونت با این ویروس باعث ایجاد سیلوستاز در نای شده و پرندگان مستعد ابتلا به پاتوژن‌های ثانویه می‌شوند که بیماری را پیچیده‌تر می‌کند. واگیری بیماری همیشه ۱۰۰٪ است. با این حال، مرگ و میر می‌تواند از صفر تا ۸۰ بسته به سن پرندگان، وضعیت ایمنی، سویه ویروس، و درگیری پاتوژن‌های ثانویه متفاوت باشد (۵). به‌طوریکه در مرغداری‌های صنعتی اکثر کشورها از نظر زیان‌های اقتصادی بعد از بیماری نیوکاسل در مرتبه دوم اهمیت قرار دارد. ژنوم ویروس تحت نوترکیبی ژنتیکی و جهش خود به خودی قرار می‌گیرد که منجر به ظهور انواع جدیدی از ویروس با سطح حفاظت متقابل پایین می‌شود و برنامه کنترل با واکسیناسیون را پیچیده می‌کند. انتقال عمودی برونشیت گزارش نشده است.

ماکیان تنها میزبان طبیعی ویروس هستند و در همه سنین آلوده می‌شوند. ویروس برونشیت از گونه‌های دیگر پرندگان مانند قرقاول و بوقلمون جدا شده است. ویروس بروشیت عفونی به‌دلیل دوره کمون کوتاه (۳۶ – ۱۸ ساعت) و واگیری شدید سریعاً در گله پخش می‌شود. ویروس برونشیت در ترشحات تنفسی و مدفوع پرندگان مبتلا وجود داشته و از طریق ذرات آئروسل منتشر می‌شود. لباس آلوده و تجهیزات آلوده مرغداری در انتشار و انتقال مکانیکی ویروس نقش مهمی ایفاء می‌کنند. به‌وسیله تنفس یا از طریق غذا و یا آب آلوده وارد بدن پرنده شده و در مجاری فوقانی دستگاه تنفسی تکثیر می‌یابد.

اگرچه برونشیت عفونی یک بیماری سیستم تنفسی است، اما ویروس طیف گسترده‌ای از گرایش بافتی را نشان می‌دهد و بیماری‌زایی سویه‌های مختلف ویروس متفاوت است. ویروس بدون توجه به گرایش بافتی سویه در بدو ورود در دستگاه تنفسی فوقانی تکثیریافته و بدنبال آن در اثر ویرمی در بافت‌های دیگر منتشر می‌شود. ویروس به بافت اپی تلیال گرایش دارد و در بسیاری از انواع سلول‌های اپیتلیال منجمله در سلول‌های اپیتلیال اندام‌های تنفسی، کلیه‌ها و دستگاه تولید مثل تکثیریافته و ایجاد ضایعه می‌کند. برخی از سویه‌های ویروس در سلول‌های اندام‌های گوارشی، اغلب با بیماری‌زایی خفیف تکثیر می‌یابند. عفونت با ویروس برونشیت عفونی اغلب به‌دلیل ایجاد ضایعه باشدت متفاوت توسط همه سویه‌های ویروس در ریه‌ها، باعث افزایش حساسیت به عفونت‌های ثانویه تنفسی یا افزایش آسیب ناشی از پاتوژن‌های تنفسی می‌شود. به دلیل سرعت انتشار بسیار زیاد این ویروس عفونت همزمان با بیش از یک سروتیپ در یک گله به کرات رخ می‌دهد. ظهور واریانت‌های جدید در ویروس برونشیت عفونی بین کروناویروس‌ها بالاترین فراوانی را دارد. این بیماری سال‌هاست که در مرغداری‌های ایران شایع می‌باشد.

سبب‌شناسی بیماری

اولین با در ۱۹۳۰ بیماری برونشیت عفونی در جوجه‌های جوان بصورت بروز یک بیماری بسیار مسری با نشانه‌های تنفسی در داکوتای شمالی، ایالات متحده آمریکا مشاهده شد و در ۱۹۳۱ گزارش گردید(۶). وجود ویروس برونشیت عفونی در سال ۱۹۳۶ توسط Beach and Schalm اثبات شد. اگرچه در ابتدا جوجه‌های جوان به برونشیت مبتلا شدند، اما بعداً مشاهده شد که در مرغ‌های بالغ و تخمگذار نیز بیماری شایع است. برای اولین بار Jungherr و همکاران در ۱۹۵۶ وجود بیش از یک سروتیپ ویروس برونشیت عفونی را گزارش کردند. آن‌ها نشان دادند که جدایه ماساچوست سال ۱۹۴۱ و جدایه کانکتیکات در ۱۹۵۱ بیماری مشابهی ایجاد می‌کنند اما ایمنی متقاطع بین آن‌ها وجود ندارد. از سال ۱۹۶۰ میلادی همه‌گیری بیماری از تمام نقاط دنیا گزارش شده است. پنج سال بعد نشان داده شد که عامل این بیماری یک RNA ویروس پوشینه دار است (۹). چندین سروتیپ متفاوت ویروس برونشیت عفونی طیور می‌توانند بطور همزمان در یک منطقه در گردش باشند. برخی از سروتیپ‌های ویروس گسترش جهانی دارند و برخی محدود به مناطق جغرافیایی خاصی هستند. به عنوان مثال برخی از سویه‌ها در اروپا و برخی در آمریکا گسترش دارند.

ویروس برونشیت عفونی اولین کروناویروس تشخیص داده شده در جهان است و نمونه اولیه گاماکرونا ویروس‌ها نیز می باشد.

ویروس در طبقه‌بندی ویروسی در جنس ۳ کوروناویروس‌ها (گاما کرونا ویروس)، خانواده کوروناویریده، راسته نیدوویروس‌ها قرار دارد (۷). ویروس دارای غشایی به قطر ۱۲۰ نانومتر با برجستگی‌های تاجی شکل است. ژنوم ویروس بزرگ و از جنس RNA تک رشته‌ای با قطبیت مثبت است که حاوی ۲۷/۶ کیلوباز (kb)، نوکلئوتید می‌باشد. ژنوم ویروس دارای چهار ناحیه ژنی کدکننده پروتئین‌های ساختاری است. پروتئین‌های ساختاری شامل پروتئین S، N، M و E هستند که به ترتیب ۳ پروتئین اصلی ساختمانی با نام‌های گلیکوپروتئین سطحی(Spike) S، پروتئین N (Nucleoprotein)، گلیکوپروتئین غشائی(Membrane) M و همچنین پروتئین کوچک غشائی بنام E را القاء می‌کنند گلیکوپروتئین سطحی S بعد از ترجمه به S1 و S2 تقسیم می‌شود. گلیکوپروتئین S1 نقش مهمی در اتصال ویروس به گیرنده‌های سطح سلول میزبان، تنوع ویروس و خنثی‌سازی

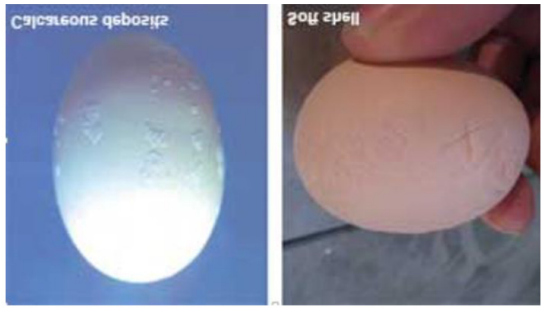
آنتی‌بادی دارد. تغییرات در گلیکو پروتئین S1 برای تعیین ژنوتیپ‌های جدید ویروس استفاده می‌شود (۷-۶).
تعداد واقعی سروتیپ‌های ویروس موجود در سراسر جهان مشخص نیست. از زمان شناسایی ویروس برونشیت تا کنون سروتیپ‌ها و واریانت‌های ویروس افزایش یافته‌اند و واریانت‌های جدید همچنان در حال ظهور هستند. جدایه‌های وحشی ویروس برونشیت از نظر فنوتیپی با سویه‌های مادری واکسن متفاوت هستند. سروتیپ‌های ویروس برونشیت تغییراتی در حدود ۲۰-۲۵٪ در گلیکوپروتئین S1 خود را نشان می‌دهند. اما این تفاوت گاهی به ۵۰ ٪ می‌رسد که منجر به از بین رفتن حفاظت متقابل می گردد (۶).

علائم بالینی

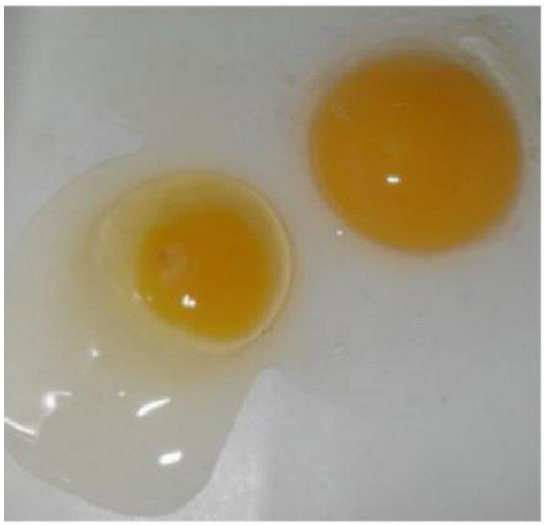
دوره کمون بیماری حدود ۳۶ تا ۴۸ ساعت و مدت درگیری گله با بیماری ۱۴-۱۰ روز است. بیماری دارای سه فرم کلیوی، تنفسی و تناسلی می‌باشد. شایع‌ترین و رایج‌ترین شکل بیماری فرم تنفسی است که در تمام سنین دیده می‌شود و علائم آن عبارتند از عطسه، سرفه، آبریزش از بینی و چشم، مرطوب بودن چشم‌ها، تورم سینوس‌های سر، تنفس با دهان باز، کز کردن و افسردگی جوجه‌ها، دور هم جمع شدن جوجه‌ها به‌خصوص تجمع دور گرم‌کننده‌ها، سیخ شدن پرها، کاهش مصرف دان (تصویر شماره ۱). در مرغ‌های تخمگذار کاهش تولید تخم‌مرغ، تغییر کیفیت ظاهری تخم‌مرغ اعم از دفرمیتی پوسته و بد شکلی تخم‌مرغ، افت کیفیت داخلی تخم مرغ: شامل آبکی شدن سفیده تخم‌مرغ و پخش شدن زرده .(تصویر شماره ۲ و ۳) .

تصویر شماره ۱ : جوجه جوان مبتلا به برونشیت عفونی (۷)

فرم کلیوی بیماری معمولاً در جوجه‌های جوان باسن ۶-۳ هفته بروز می کند و در این حالت جوجه‌هاعلائمی از قبیل کزکـــردگی، سیخ شدن پرهای پشت گردن و جمع شدن دورگرم کننده‌ها، بی‌اشتهائی، اسهال سفید گچی واوراتی داشته و گاهی علائم تنفسی را نشان می‌دهند.



تصویر شماره ۲: تخم مرغ سمت راست دارای پوسته نرم و تخم مرغ سمت چپ دارای پوسته با رسوبات آهکی است که توسط مرغ‌ها در طول بیماری گذاشته شده است.(۱۰)



تصویر شماره ۳: آلبومین آبکی تخم مرغ، مرغ آلوده به ویروس برونشیت عفونی (سمت راست) در مقایسه با تخم مرغ سالم (سمت چپ). به سفیده آبکی با زرده جدا از سفیده غلیظ توجه کنید(۷)

دستاورد

بهترین روش پیشگیری وکنترل بیماری برونشیت عفونی، بر رعایت دقیق اصول امنیت زیستی و استفاده از واکسن استوار است. در طیور صنعتی اکثر کشورهای جهان استفاده از واکسن‌های زنده تخفیف حدت‌یافته و کشته روغنی تهیه شده با سویه‌های ماساچوست در اکثر کشورهای جهان متداول است. در جوجه‌های گوشتی معمولا از واکسن‌های زنده تخفیف حدت‌یافته استفاده می‌شود. در گله‌های تخمگذار و مادر علاوه بر واکسن‌های زنده در شروع زندگی، برای ارتقاء پاسخ ایمنی از واکسن‌های کشته روغنی قبل از شروع تخمگذاری استفاده می‌شود. واکسن‌های زنده در تحریک ایمنی سلولی و موضعی مخاطی نقش مهمی را ایفاء می‌کنند. در کنترل تمام بیماری‌های میکروبی رعایت اصول بهداشتی آشیانه و گله اولین قدم در مبارزه با بیماری محسوب می‌شود. رعایت اصول ایمنی زیستی و انجام دستورالعمل‌های سازمان دامپزشکی کشور برای جلوگیری از آلودگی گله توسط میزبان‌ها و مشاغل مرتبط با پرورش، تغذیه و درمان می‌تواند برای ثبات و بقای گله بسیار مفید باشد. ولی از طرفی با توجه به تنوع سروتیپ‌های ویروس برونشیت عفونی طیور و عدم ایجاد پاسخ ایمنی متقاطع کافی بین آن‌ها، برنامه‌ریزی برای واکسیناسیون جوجه‌ها با واکسن‌های مختلف از سویه‌های ایمنی‌زا و طیف ایمنی بیشتر با در نظر گرفتن سروتیپ‌های موجود در فیلد به منظور کنترل و پیشگیری بیماری بسیار حائز اهمیت است.

ظهور وایانت‌های جدید ویروس برونشیت عفونی در گله‌های صنعتی طیور،کنترل و پیشگیری از بیماری را همواره با مشکل مواجه کرده است. لذا پس از رعایت اصول بهداشتی و ایمنی زیستی واکسیناسیون مهم‌ترین روش برای کاهش تلفات و عوارض ناشی از بیماری بوده است. در اکثر برنامه‌های واکسیناسیون، واکسن‌های زنده ضعیف شده مورد استفاده قرار می‌گیرند. با این حال این واکسن‌ها با محدودیت‌هایی مواجه هستند از جمله پایداری حرارتی ضعیف، بازگشت به حدت با بازآرایی ژنومی بین ویروس واکسن و ویروس‌های مزرعه این عوامل ممکن است به افزایش ظهور و تنوع سویه‌های جدید کمک کرده و پیشگیری از بیماری را با مشکل مواجه کنند(۶).

وجود ویروس برونشیت عفونی سروتیپ ماساچوست اولین بار در ایران در سال ۱۳۷۳ توسط آقاخان و همکاران با آزمایش‌های سرولوژی به اثبات رسید. گزارش‌های بعدی نشان دادند که شایع‌ترین ویروس جدا شده در ایران سروتیپ ماساچوست (۱۲ جدایه) و پس از آن یک مورد سویه اروپایی D/274 و سویه‌های مشابه ۹۱/۴ (B/739) بوده است. حضور ویروس برونشیت سویه ۴/۹۱ در مرغداری‌های ایران در سال‌های ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۲ به اثبات رسید (۶). متعاقباً نشان داده شد که سویه‌های مشابه ۴/۹۱ در جوجه‌های گوشتی شیوع بیشتری نسبت به سویه‌های ماساچوست دارند. بین سال‌های ۱۳۷۸ تا ۱۳۸۳، تعداد ۱۵۰ گله برای تشخیص واریانت‌های مورد آزمایش قرار گرفتند و ۵۷ گله (۵۲/۷٪) آلوده به سروتیپ B/793 ، ۱۸ گله (۱۶/۶٪) سروتیپ ماساچوست و ۳۳ گله (۳۰/۵٪) به هر دو ژنوتیپ آلوده بودند. بنابراین اینطور نتیجه‌گیری کردند که واکسن‌های ماساچوست و ۴/۹۱ به تنهایی توانایی ایجاد مصونیت کامل در جوجه‌ها را بر علیه عفونت ناشی از برونشیت ندارند، و حتی ممکن است این واکسن‌ها اپیدمیولوژی ویروسی را پیچیده‌ترکنند (۶) واریانت ایرانی IRFIBV32،B/793یا سروتیپ شبه CR88، دارای توزیع بافتی وسیعی است که باعث ایجاد ضایعات مشخص در سیستم تنفسی، تناسلی و گوارشی می‌شود. پس از تلقیح واریانت IR/2001/773 به جوجه نشان داده شد که این سویه‌های ویروس، تمایل به بورس فابریسیوس دارند. بنابراین نتیجه‌گیری کردند که واریانت‌های IRFIBV32 دارای پتانسیل سرکوب کننده سیستم ایمنی هستند. در سال‌های اخیر بر اساس آنالیز فیلو ژنتیکی توالی کامل ژن S1، ویروس‌های برونشیت به هفت ژنوتایپ و تعداد زیادی دودمان (lineage) و بین دودمانی (interlineage) تقسیم بندی شده‌اند: GI-GVII. ویروس‌های ماساچوست در ژنوتیپ۱-B/793، GI و ۴/۹۱ در ژنوتیپ GI-13 و variant ۲ در ژنوتایپ GI-23 قرار دارند. همچنین مشخصات ژنتیکی جدایه‌های ایرانی بر اساس توالی ژن S1 در شش خوشه فیلوژنتیکی مجزا دسته‌بندی شدند. واریانت۲، QX-like، MASS-like، LIKE-4/91، like-IS/720، به ترتیب با نرخ های جداسازی ۳۲، ۲۱، ۸، ۱۰، ۴ و ۳ درصد (۶).

واکسن برونشیت عفونی در ایران

تاریخ تاسیس و سابقه فعالیت تحقیقاتی و تولیدی بخش‌های واکسن‌های ویروسی طیور که ابتدا تحت نام بخش تشخیص و تحقیق بیماری‌های طیور در موسسه تحقیقاتی رازی آغاز بکار کرد را باید در سال ۱۳۲۹ هجری شمسی همزمان با تلفات اقتصادی ناشی از بیماری مهلک نیوکاسل در ایران جستجو کرد.

بین سال‌های ۱۳۴۲ الی ۱۳۴۹ وجود ویروس برونشیت عفونی در ایران در نمونه‌های ارسالی به موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی به اثبات رسید. بدنبال آن در ۱۳۵۳ تولید واکسن با سویه زنده تخفیف حدت‌یافته120-Hبرای طیور گوشتی و در سال ۱۳۵۴ واکسن برونشیت با سویه52-H برای مرغان تخمگذار روی تخم‌مرغ‌های SPF توسط آقای دکتر امراله صدقیانی آغاز شد.

پیشگیری از بروز دو بیماری مهم نیوکاسل و برونشیت عفونی در صنعت طیور شامل رعایت موارد ایمنی زیستی و مایه کوبی است. برای کاهش هزینه‌های تولید، مایه کوبی همزمان با دو یا سه واکسن مانند واکسن توام نیوکاسل و

برونشیت یک عملکرد متداول در گله‌های صنعتی طیور شده است. در این میان استفاده از واکسن‌های زنده متعدد به علت در برداشتن هزینه‌های اقتصادی زیاد، صاحبان مرغداری‌ها را به استفاده از واکسن‌های دو ویا چند گانه زنده و یا کشته ترغیب نموده است. استفاده از این نوع واکسن‌ها از نقطه نظر اقتصادی به‌خاطر حذف استرس ناشی از مایه کوبی مکرر و آلودگی مایه کوبان، احتمال کاهش مرگ و میر در گله، صرف وقت و هزینه کمتر و حذف عوامل زیان‌آور دیگر مورد استقبال فراوان قرار گرفته اند.

در بعضی از گله‌های طیور غیرصنعتی صاحبان گله سعی کرده‌اند با اختلاط ویروس‌های زنده نیوکاسل و برونشیت با یکدیگر محصولی دست‌ساز را به‌عنوان واکسن ساخته و در گله مصرف کنند (۳). در حالیکه مخلوط نمودن دو واکسن تک گانه نیوکاسل و برونشیت بدون در نظر گرفتن فرمولاسیون منطبق بر علم و تلقیح آن باعث بروز انترفرانس بین دو ویروس شده و ایمنی موثری را بوجود نمی‌آورد و در برابر چالش با ویروس حاد مقاومت مناسبی دیده نخواهد شد. لذا بهینه‌سازی فرمولاسیون ویروس‌های واکسینال نیوکاسل و برونشیت در واکسن دوگانه حتی در نوع غیرفعال آن و همچنین سن و روش مایه کوبی از فاکتورهای بسیار مهم در بدست آوردن ایمنی محافظت کننده در حد مطلوب می‌باشد (۳، ۸). لذا موسسه رازی در سال ۱۳۸۷ برنامه‌ریزی تحقیق و تولید واکسن‌های زنده دوگانه را ارائه نمود. تولید واکسن‌های دوگانه زنده نیوکاسل به همراه برونشیت موسسه رازی از سال ۱۳۸۷ با تولید واکسن دوگانه زنده نیوکاسل (B1) + برونشیت (H-120) پس از تحقیقات بسیارآغاز شد (۳) و به دنبال آن واکسن زنده دوگانه نیوکاسل (لاسوتا) + برونشیت (H-120) از سال ۱۳۹۲ با اخذ پروانه تولید انبوه از سازمان دامپزشکی کل کشور به تولید انبوه رسید (۸). بنابراین درحال حاضر در گله‌های صنعتی و غیر صنعتی تجویز واکسن توام نیوکاسل/برونشیت به تجویز جداگانه این دو واکسن ترجیح داده می‌شود.

در سال ۱۳۹۸ با توجه به خصوصیات ویروس نیوکاسل سویه Clone12IR تصمیم بر این شد که واکسن زنده دوگانه Clone12IR+H-120 تولید گردد.کلون یک سویه لنتوژنیک نیوکاسل است که دارای مصونیت بخشی بهتری از لاسوتا بوده و به بی‌ضرری سویه B1 ویروس نیوکاسل می‌باشد. ویروس کلون مزایای هر دو واکسن B1 (حداقل عوارض تنفسی بعد از واکسیناسیون) و لاسوتا (تحریک ایمنی بالا در جوجه ها در حضور آنتی‌بادی مادری) را دارد و حتی پس از مصرف در یکروزگی حداقل عوارض پس از واکسیناسیون ممکن است روی دهد. در سال ۱۴۰۲ پروانه موقت تولید واکسن دوگانه Clone12IR+H-120 اخذ شده است(۱).

با اثبات وجود ویروس برونشیت عفونی سروتیپ B/793 در مرغداری‌های ایران تحقیق جهت تهیه بذر واکسن از سویه بومی در سال ۱۳۹۳ آغاز شد و در سال ۱۳۹۸ تولید واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته برونشیت عفونی سروتیپ B/793 سویه IB12IR با اخذ پروانه تولید انبوه از سازمان دامپزشکی کل کشور در مقیاس صنعتی آغاز شد (۲). تحقیق در زمینه تولید واکسن‌های جدید همچنان در بخش تحقیق و تولید واکسن‌های طیور موسسه رازی ادامه دارد.

روش استفاده از واکسن

استفاده صحیح و به موقع از واکسن ابزار قدرتمندی در پیشگیری از بیماری‌های طیور است. واکسن باعث تحریک سیستم ایمنی بدن پرنده و ایجاد مصونیت در برابر عوامل بیماری‌زا می‌گردد. روش‌های استفاده از واکسن شامل روش‌های گروهی و انفرادی هستند. روش‌های گروهی شامل اسپری و آشامیدنی و روش‌های انفرادی شامل قطره چشمی و داخل بینی می‌باشند. واکسن‌های زنده برونشیت با روش‌های قطره چشمی، آب آشامیدنی و اسپری مصرف می‌شوند.

روش آشامیدنی:

تجویز واکسن به روش آشامیدنی اقتصادی‌ترین و ساده‌ترین روش از نظر امکانات و تجهیزات و نیروی کار مورد نیاز می‌باشد گذشته از اینکه در این روش کمترین استرس به به پرندگان وارد می‌شود زیرا نیاز به جمع‌آوری پرندگان، در دست گرفتن آن‌ها نمی‌باشد. اما برای اجرای این روش مدیریت دقیقی لازم است تا کارایی واکسیناسیون مانند روش انفرادی باشد.

معمولا تا سن ۱۰ روزگی، هر ۱۰۰۰ دز واکسن در ۱۰ لیتر آب خنک، تمیز و عاری از کلرین بایستی کاملا حل شده، سپس به نسبت ۲ تا ۲/۵ در هزار شیر پس چرخ (بدون چربی) به آن اضافه شود (برای هر یک روز سن بیشتر، یک لیتر آب اضافی در نظر گرفته شود. در این روش، ۱ تا ۲ ساعت قبل از شروع واکسیناسیون، بسته به شرایط آب و هوایی و سن طیور، می‌بایست ماکیان را از دسترسی به آب محروم نمود. غیر از نکات ذکر شده موارد دیگری که در این روش بایستی رعایت کرد عبارتنداز :

۱-شستشوی مسیرهای لوله‌های آبخوری و زنگوله‌های آبخوری با آب معمولی و پر فشار و بدون استفاده از مواد ضدعفونی و یا شوینده‌ها و باز بودن شیر انتهای سیستم آخوری تا مواد و جرم‌های احتمالی موجود در لوله‌ها خارج گردد. در سیستم آبخوری نیپل بایستی فیلتر فشار شکن سیستم، از مدار خارج شود.

۲- عدم استفاده از مواد ضدعفونی در سیستم آبخوری حداقل تا ۷۲ ساعت قبل از واکسیناسیون.

۳- قطع مصرف ضدعفونی و داروها در داخل دان حداقل ۴۸ ساعت قبل از واکسیناسیون (۴).

تصویر شماره ۴ : واکسیناسیون به روش آشامیدنی (۴)

۲- قطره چکانی در چشم:
این روش بهترین شیوه برای اطمینان از واکسیناسیون انفرادی بوده و یکی از دقیق‌ترین انواع واکسیناسیون است و بر دیگر روش‌ها ارجحیت دارد. در این روش برای فرآوری هر ۱۰۰۰ دز، محتوای ویال واکسن را در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل خنک کاملا حل کرده، سپس با استفاده از قطره چکان استاندارد، در چشم هر جوجه یک قطره چکانده شود. ساختن محلول و دقت واکسیناتور در اجرای صحیح و دقیق روش قطره چشمی نقش بسزایی دارد. واکسیناتورها بایستی با دقت انجام صحیح این روش را مدیریت نمایند زیرا انجام دقیق واکسیناسیون قطره چشمی می‌تواند در پیشگیری از بیماری‌های مختلف بخصوص نیوکاسل در گله نقش بسزایی داشته باشد. درواقع بک واکسیناسیون دقیق و تک به تک برای جوجه‌ها شانس دارا بودن یک تیتر آنتی‌بادی عالی در برابر بیماری‌ها را به‌شدت افزایش می‌دهد .

تصویر شماره ۵ : واکسیناسیون به روش قطره چکانی در چشم (۴)

۳-روش اسپری:
در این روش هر ۱۰۰۰ دز واکسن در ۱۰۰ تا ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر خنک و عاری از کلرین حل شده و اسپری شود. میزان رقت و اندازه ریز قطره به سن ماکیان و نوع دستگاه اسپری بستگی دارد.

روش اسپری برای جوجه‌های یک روزه و داخل کارتن استفاده می‌شود. اسپری از ارتفاع ۳۰-۲۰ سانتی‌متری انجام شده و جوجه‌ها ۱۵-۱۰ دقیقه بعد از واکسیناسیون در داخل کارتن می‌مانند. تنظیم قطرات اسپری و سرعت اهمیت زیادی دارد. ذرات باید بین ۸۰ تا ۱۸۰ میکرون قطر داشته باشند. رطوبت توصیه شده در زمان اسپری ۷۰ ٪ می‌باشد. تجهیزات نباید برای انجام فعالیت‌های دیگر استفاده شده باشد. در هنگام اسپری سیستم‌های هواده مثل هیترها و هواکش‌ها خاموش باشند، پنجره‌ها را بسته و نور سالن به حداقل رسانده شود(۴).

تصویر شماره ۶ : واکسیناسیون به روش اسپری (۴)

توصیه ترویجی

کنترل میزان تلفات و کاهش خسارات ناشی از بیماری برونشیت عفونی طیور علاوه بر مدیریت صحیح بهداشتی، حفظ امنیت زیستی گله‌های صنعتی و استفاده از واکسن‌های مناسب در مزارع صنعتی طیور، همچنین آموزش‌های ترویجی مرغداران و کارگران مرغداری‌ها برای آگاه‌سازی آن‌ها در خصوص اهمیت پیشگیری وکنترل بیماری‌ها از امور مهم می‌باشند. البته از جمله راهکارهای کنترل بیماری برونشیت عفونی طیور، پیشگیری و کنترل بیماری در طیور روستایی و بومی و بازارهای فروش پرنده می‌باشد. آگاه‌سازی روستاییان در خصوص لزوم واکسیناسیون پرندگان بومی برای جلوگیری از شیوع و قطع چرخه گردش ویروس در روستا است. از طرف دیگر عدم پرورش گله‌های چند سنی در یک منطقه محدود و دقت در خرید پرنده‌های جایگزین دارای سابقه واکسیناسیون معتبر از دیگر مسائل قابل توجه می‌باشد. البته مانیتورینگ مداوم بیماری و ارزیابی سویه‌های درگردش توسط سازمان دامپزشکی جهت تعیین نوع واکسن نیز اهمیت بسزایی دارد.

فهرست منابع

۱- مسعودی شهین، ابراهیمی محمدمجید، پیشرفت ثابت لیلا، مجاهدی زهره، شاهسوندی شهلا، ابراهیمی سید رضا، شوشتری عبدالحمید، فلاح مهرآبادی محمدحسین، احمدی مریم، شیری جید نادیه، طهماسبی، حسن، ارمندئی سعدی. (۱۴۰۲). طراحی و ساخت آزمایشگاهی و نیمه صنعتی واکسن زنده دو گانهٔ نیوکاسل (۱۲IR.Clone) و برونشیت عفونی (H-۱۲۰). گزارش نهایی. کد پروژه : ۹۰۰۳۹-۱۸-۱۸-۲

۲- شهین مسعودی، محمد مجید ابراهیمی، عبدالحمید شوشتری، شهلا شاهسوندی، لیلا پیشرفت ثابت، بهمن خالصی، سعدی ارمندئی و حسن طهماسبی. (۱۳۹۷). طراحی و تهیه بذر واکسن برونشیت عفونی سروتیپ B/۷۹۳ ایران . تهران- ایران. بیستمین کنگره دامپزشکی ایران ۱تا ۲ مرداد ماه ۱۳۹۷

۳- مقدم پور مسعود، مسعودی شهین ، اخویزادگان محمد علی، قدسیان ناصر، خالصی بهمن و آقاعلیخانی محمد. بررسی توانمندی واکسن زنده دوگانه (IB(H۱۲۰/(ND(B۱ ساخت موسسه رازی. چهارمین همایش بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران، کرمان. مرداد ۱۳۸۴

۴- روغنی احمد. آموزش روش‌های مختلف واکسیناسیون. اردیبهشت ۱۳۹۹. مجله علمی دام پخش.

5-Cook, J.K., Jackwood, M., Jones, R.C. (2010). The long view: 40 years of infectious bronchitis research; Avian Phatology; 41: 239-250

6- Faruku, B., Arshad, S. S., Omar, A. R., Hair-Bejo, M., Mahmuda, A., Nair, V. (2017) .Global distributions and strain diversity of avian infectious bronchitis virus: a review. Animal Health Research Reviews 18(1); 70–83

7- Faruku, B., Arshad, S. S., Omar, A. R., Hair-Bejo, M., Abubakar, M.S. and Abba, Y. (2016). Pathogenesis and Diagnostic Approaches of Avian Infectious Bronchitis a review. Advances in Virology Volume 2016, Article ID 4621659, 11 pages. http://dx.doi.org/10.1155/2016/4621659

8- Masoudi, S. and Ebrahimi. M.M. (2017). Preparation and Competative Immune Responce Evaluation of Infectious Bronchitis (H-120) + Newcastle Disease (La-Sota) Live Bivalent Vaccine. International Journal of Advanced Biotechnology and Research (IJBR), Vol-8, Issue-4, 2017, pp152-157. ISSN 0976-2612, Online ISSN 2278–599X,

9- Ramakrisham. S. & Kappala, D. (2019). Avian Infectious Bronchitis Virus. In: Malik,Y.S., Raj Singh, K. and Yadav. M. P. Recent Advances in Animal Virology. 301-319.

10 - Rik van den Bos, Infectious bronchitis in parent stock- early protection is essential Company veterinarian, Aviagen February 2009.

واکسیناسیون طیور در آنفلوانزای فوق حاد پرندگان

حمیدرضا فرزین *

عضو هیات علمی(استادیار)، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شعبه مشهد،ایران.

نویسنده مسئول: حمیدرضا فرزین hrfarzin@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۰۹-۰۸-۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: ۰۷-۱۲-۱۴۰۲

چکیده

بیماری آنفلوانزای فوق حاد در سالیان اخیر علاوه بر مرگ و میر انسانی، خسارات فراوانی را در صنعت طیور ایجاد نموده است. یکی از راه‌های جلوگیری از انتشار بیماری در برنامه‌های ریشه‌کنی واکسیناسیون گله‌های در معرض عفونت با واکسن می‌باشد. واکسیناسیون حلقه‌ای (Ring vaccination) و واکسیناسیون پیشگیرانه (Preventive vaccination) دو راه کار با دو رویکرد متفاوت می‌باشند. هر دو روش صرفا به منظور کاهش انتشار ویروس در چارچوب برنامه ریشه‌کنی بیماری می‌باشند. این واکسن‌ها با جلوگیری از شیوع ویروس‌های آنفلوانزا در طیور، از انتقال این ویروس‌ها به انسان‌ها جلوگیری می‌کنند و به حفظ سلامت جامعه کمک اساسی می‌کنند. از نظر اقتصادی نیز این واکسن‌ها با حفاظت از صنعت طیور، از بروز خسارت‌های اقتصادی هنگفت جلوگیری می‌کنند.

واژگان کلیدی

واکسن، آنفلوانزای فوق حاد، طیور

بیان مسئله و اهمیت موضوع

بیماری آنفلوانزای طیور یک بیماری ویروسی است که در سراسر دنیا انتشار دارد و توسط ویروس‌های آنفلونزای تیپ A از خانواده ارتومیکسوویریده ایجاد می‌شود. ویروس‌های آنفلوانزای تیپ A بر اساس خواص آنتی‌ژنیک گلیکوپروتئین‌های هماگلوتینین(H) و نورآمینیداز(N) به تحت تیپ‌های مختلف تقسیم می‌شوند. ویروس‌های آنفلوانزا بر پایه حدت بیماری که در ماکیان ایجاد می‌کنند به دو گروه تقسیم می‌شوند:

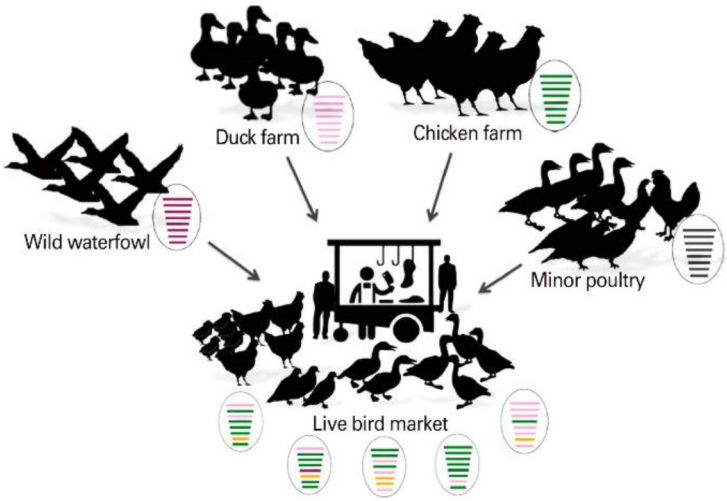
۱- ویروس‌های با حدت کم یا Low pathogenic avian influenza (LPAI)

۲- ویروس‌های با حدت زیاد یا Highly pathogenic avian influenza (HPAI) که بیشتر مشتمل بر تحت تیپ‌های H۵ و H۷ بوده و می‌تواند منجر به مرگ و میر تا ۱۰۰٪ در پرندگان مبتلا شود.

این ویروس‌ها طیف وسیعی از حیوانات خونگرم شامل پرندگان خانگی و وحشی و پستانداران (به عنوان مثال: انسان‌ها، خوک‌ها و اسب‌ها) را آلوده می‌کنند. ویروس آنفلوانزا به طور مداوم و به صورت همه‌گیری‌های سالیانه ظهور کرده و در ایالات متحده خسارات جانی بالایی ببار آورده است. در سده اخیر، سه پاندمی ویروس تیپ A آنفلوانزا در سه برهه زمانی سال ۱۹۱۸ (تحت تیپ H1N1)، ۱۹۵۷ (تحت تیپ H2N2) و ۱۹۶۸ (تحت تیپ H3N2) خسارات بسیاری برجای گذاشت(۱).

در فاصله زمانی بین دسامبر ۱۹۹۹ تا آوریل ۲۰۰۳ تنها در اروپا، بیش از ۵۰ میلیون پرنده بر اثر ابتلا به آنفلوانزای فوق حاد تلف شده و یا معدوم گشتند، که این نکته خود بیانگر اثرات ویرانگر اجتماعی و اقتصادی این بیماری است. پس از همه‌گیری‌های ویروس فوق حاد پرندگان که در سال ۲۰۰۲ در پرندگان مهاجر و مرغابیان در هنگ کنگ و چین گزارش شد، تحقیقات ثابت کرد که این پرندگان نقش عمده‌ای در گسترش این ویروس در سطح آسیا به عهده دارند، و این در حالی است که برخی از این پرندگان نشانه‌های بارز بالینی مبنی بر ابتلا به بیماری را از خود بروز نمی‌دهند(تصویر شماره ۱). پس از شیوع این ویروس در اواخر دهه ۱۹۹۰، گزارشات پی در پی از جداسازی این ویروس از هنگ کنگ، ویتنام، تایلند، اندونزی و دیگر کشورهای آسیای جنوب شرقی، خاورمیانه و سپس در سراسر قاره آسیا و نفوذ آن به اروپا و آفریقا، زنگ‌های خطر را برای مواجهه با این ویروس خطرناک به صدا درآورد. در حال حاضر در بیش از ۶۰ کشور جهان ویروس فوق حاد پرندگان گسترش یافته است. در سال ۱۳۳۳ بیماری بسیار واگیرداری در اکثر نقاط ایران از جمله اطراف تهران دیده شدکه شبیه آنفلوانزای پرندگان بود. در سال۱۳۷۷ اولین موارد بیماری آنفلوانزای کم حدت پرندگان به طور رسمی گزارش شده است؛ سال ۱۳۸۴ نیز نوع جدیدی از ویروس بیماری آنفلوانزای فوق حاد در ایران گزارش شد. رخداد آنفلوانزای فوق حاد در کشور در سال‌های ۱۳۸۵، ۱۳۹۰ و ۱۳۹۴ در طیور بومی و در سال ۱۳۹۵ در طیور صنعتی گزارش شد. از آن پس، تقریبا همه ساله به نوعی، درگیری ویروس گزارش شده است.

ویروس آنفلوانزای فوق حاد در عین ایجاد تلفات شدید در بین پرندگان اهلی و وحشی و خسارات سنگین مالی ناشی از معدوم‌سازی حیوانات درگیر، به علت مشترک بودن بین انسان و دام، جان ده‌ها انسان را گرفته و خطر یک پاندمی



تصویر شماره ۱- راه انتقال ویروس آنفلوانزای پرندگان به انسان

فاجعه بار را در دنیا به دنبال دارد. در حال حاضر سازمان‌های جهانی نگهبان سلامت بشر نگران بروز جهانی این ویروس کشنده بوده و تلاش‌های بسیاری در راستای پیشگیری از ابتلائات جدید به این ویروس در حال انجام است(۲).

دستاورد

پیشگیری از ابتلا به این ویروس شاید عاقلانه‌ترین و بصرفه‌ترین راه مقابله با خسارات احتمالی می‌باشد. واکسیناسیون یکی از قدرتمندترین راه‌های کنترل و مبارزه با آنفلوانزا می‌باشد. نشان داده شده است که واکسیناسیون باعث افزایش مقاومت به درگیری با ویروس فیلد، کاهش سطح انتشار ویروس در پرندگان واکسینه شده و کاهش انتقال بیماری می‌شود. استفاده از واکسن به جهت جلوگیری از خسارات جانی و مالی ناشی از ویروس آنفلوانزا امری اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. واکسن آنفلوانزای طیور با افزایش ایمنی جوجه‌ها، از شیوع بیماری در طیور جلوگیری می‌کنند. این پیشگیری از انتقال ویروس به جوجه‌ها، می‌تواند مانع از شیوع بیماری در گله شده و در نتیجه منجر به کاهش تلفات در جوجه‌ها گردد. این عملکرد واکسن‌ها در جلوگیری از انتقال ویروس‌های آنفلوانزا از طیور به انسان نقش مهمی دارد(۳).

از آنجایی که بیماری‌های آنفلوانزا به ویژه انواعی که از جوجه به انسان منتقل می‌شوند، ممکن است به شکل اپیدمیک یا حتی پاندمیک در جوامع انسانی گسترش یابند، واکسیناسیون طیور در پیشگیری از اینگونه شرایط عاملی اساسی است. واکسن‌ها از انتقال ویروس‌های آنفلوانزا از طیور به انسان‌ها جلوگیری کرده و سلامت جامعه را تضمین می‌کنند. واکسیناسیون آنفلوانزا طیور به کاهش تلفات جوجه‌ها به علت بیماری کمک می‌کند. این امر به بهبود امنیت غذایی جامعه منجر می‌شود. با دستیابی به تولید بیشتر گوشت و تخم‌مرغ با کیفیت و بدون آلودگی به ویروس‌های آنفلوانزا، جامعه انسانی از انرژی و منابع بیشتری در تأمین مواد غذایی بهره‌مند می‌شود.

وجود برنامه‌های واکسیناسیون طیور و اجرای آنها به عنوان یک اصل اساسی در مبارزه با آنفلوانزای طیور، اعتماد عمومی به سازمان‌ها و دولت را تقویت می‌نماید. جامعه انسانی با توجه به اقدامات دولت در پیشگیری و کنترل بیماری‌ها، احساس امنیت و اطمینان بیشتری پیدا می‌کند و منجر به افزایش اعتماد بازارهای بین‌المللی می‌شود. این امر می‌تواند به افزایش صادرات محصولات طیور به کشورهای دیگر و بهبود نقش اقتصادی این صنعت منجر گردد(۴).

هم‌اکنون واکسیناسیون علیه سویه‌های حاد در برخی کشورها مانند چین، روسیه و ویتنام و حتی کشور خود ما ایران انجام شده است و درحال گسترش می‌باشد. واکسن‌های تجاری موجود علیه آنفلوانزای فوق حاد پرندگان، در دودسته کلی طبقه‌بندی می‌شود:

الف: واکسن‌های غیرفعال: در کشور ما بیشتر این نوع واکسن موجود است که به صورت تک‌گانه شامل سویه H5 یا H7 و دوگانه شامل سویه H5 و H7 وجود دارد. هر دو واکسن تک‌گانه و دوگانه ممکن است شامل نوع نورامینیداز هم‌سان یا ناهمسان باشد؛ که بستگی به نوع نورامینیداز ویروس موجود در فیلد و نورامینیداز موجود در واکسن دارد. علاوه بر این واکسن آنفولانزا سویه H9 نیز مصرف بالائی در کشور دارد. در حال حاضر واکسن غیر فعال آنفولانزا با سویه حاد و هم سویه‌های غیر حاد از جمله H9 در کشور ما ساخته و توزیع می‌شود(تصویر شماره ۲).

همچنین واکسن‌های نوترکیب با روش REVERSE GENETIC که جزو جدیدترین و کارآمدترین واکسن‌های روز دنیا می‌باشند توسط چند شرکت محدود در دنیا در حال ساخت است(تصویر شماره ۳) که در حال حاضر موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی به تکنولوژی تولید آن دست یافته و تولید آزمایشی آن در مراحل نهایی می‌باشد.

ب: واکسن‌های نوترکیب زنده (فاول‌پاکس H5): این

تصویر شماره ۲- واکسن غیرفعال روغنی آنفلوانزای طیور سویه‌های H9 و H5 ساخت داخل کشور

تصویر شماره ۳- نمونه هایی از واکسن‌های نوترکیب که در دنیا در حال مصرف می‌باشند

واکسن‌ها تنها در جوجه‌های یک روزه موثر هستند زیرا تماس بعدی با ویروس فاول پاکس وحشی مانع استفاده از واکسن می‌شود.

انواع استراتژی واکسیناسیون:

به طور کلی، در استفاده از واکسیناسیون در برابر عفونت‌های آنفلوانزای پرندگان در گونه‌های هدف، باید به هدف واکسیناسیون توجه شود:

- واکسیناسیون اضطراری در مواجهه با یک واگیری،
- واکسیناسیون پیشگیرانه در زمانی که احتمال خطر بیماری وجود دارد،
- واکسیناسیون روتین در مواردی که بیماری متداول است، واکسیناسیون روتین می‌تواند در کاهش مرگ و میر و ضرر تولید مؤثر باشد.

در روش‌های جدید ژن HA را از نظر ژنتیکی تغییر داده تا چندین اسید آمینه‌ی بازی را در ناحیه‌ی شکافت، بیان نکند. از این رهیافت استفاده شده تا چندین واکسن ژنتیک معکوس HPAI ساخته شود. این واکسن‌ها به عنوان ویروس کامل غیرفعال با ادجوانت روغنی تولید می‌گردند. فایده‌ی این واکسن در مقایسه با واکسن‌های کامل ویروسی مرسوم این است که می‌توان آنها را سریع‌تر جداسازی و در روند تولید قرار داد. و همچنین آنها را می‌توان به عنوان LPAI با خطر امنیت زیستی پایین مورد استفاده قرار داد(۵).

عموما از دو روش واکسیناسیون برای مواجهه با آنفلوانزای فوق حاد استفاده می‌شود: در روش اول که به استراتژی واکسیناسیون Ring barrier معروف است، در پی بروز همه‌گیری، کلیه پرندگان موجود در منطقه بروز همه‌گیری، کشتار می‌شوند و بعلاوه در خارج از منطقه خطر تا فاصله معینی همه پرندگان مورد واکسیناسیون قرار می‌گیرند. این عمل باعث ایجاد سدی در میان مناطق آلوده و پاک شده، و از انتشار بیماری جلوگیری می‌کند. در روش دوم که به روش پیشگیرانه معروف است، قبل از بروز بیماری، کلیه پرندگان مورد واکسیناسیون قرار می‌گیرند تا در زمان مواجهه با ویروس، آنتی‌بادی موجود در خون پرندگان از ابتلا به بیماری و ایجاد خسارات بعدی جلوگیری کند.

با توجه به اهمیت جلوگیری از انتقال ویروس‌های آنفلوانزا به انسان‌ها و همچنین حفظ سلامت صنعت طیور، واکسیناسیون آنفلوانزای طیور به عنوان یکی از ابزارهای اساسی در کنترل و پیشگیری از این بیماری به کار می‌رود. این واکسن‌ها به جوجه‌ها تزریق می‌شوند تا سیستم ایمنی آن‌ها را تقویت کنند (۳) و از ابتلا به ویروس‌های آنفلوانزای نوع A جلوگیری کنند. همچنین، واکسن آنفلوانزای طیور می‌تواند به جلوگیری از انتقال بیماری از طیور به انسان کمک کند.

توصیه ترویجی

کشور ما با دارا بودن میلیون‌ها قطعه طیور صنعتی و پرندگان وحشی و از طرفی به دلیل گذر مسیرهای طبیعی مهاجرت پرندگان مهاجر از آن، یکی از کانون‌های اصلی خطر ابتلا به این بیماری مهلک آنفلوانزای فوق حاد پرندگان به شمار رفته و در صورت عدم وجود آمادگی لازم برای مقابله با درگیری احتمالی با این بیماری، مستعد خطرات جانی و مالی سهمگینی است.

یکی از مسائل مهم در پیشگیری از بیماری آنفولانزا، رعایت اصول امنیت زیستی است. جلوگیری از ورود پرندگان وحشی به محل نگهداری پرندگان، رعایت اصول بهداشتی و امنیت زیستی در مرغداری‌های صنعتی، ضد عفونی کامل محل پرورش مرغ و تجهیزات آن قبل از جوجه‌ریزی و ممانعت از ورود حیوانات دیگر به عنوان ناقلین مکانیکی به محل پرورش طیور از نکات مهمی است که بایستی مورد توجه قرار گیرند.

در عین حال با توجه به اینکه بیماری آنفلوانزای طیور به راحتی از طریق تماس با طیور آلوده به ویروس، انتقال پیدا می‌کند، استفاده از واکسن آنفلوانزای فوق حاد طیور به عنوان یکی از روش‌های مهم جلوگیری از انتشار بیماری در طیور حائز اهمیت است.

با وجود اثرات مثبت واکسیناسیون، باید کارایی و اثرگذاری واکسن‌ها مورد آزمایش و ارزیابی قرار بگیرد. پایش و نظارت فعال(Active surveillance)

گله‌های واکسینه شده موجب می‌گردد تا از اثرگذاری و امنیت واکسن برای طیور و گوشت و تخم‌مرغ آنها اطمینان حاصل شود، اما متاسفانه در بسیاری از کشورها، در مناطقی که برنامه واکسیناسیون انجام می‌پذیرد برنامه پایش به طور کامل و دقیق صورت نمی‌گیرد. همچنین در بحث کنترل بیماری و ریشه‌کنی، تشخیص پرنده‌های عفونی از پرنده‌های واکسینه نقش مهمی دارد. در صورتی که از استراتژی واکسیناسیون DIVA (متمایز کردن حیوانات آلوده از حیوانات واکسینه شده) یا واکسن‌های مارکر استفاده شود، می‌توان به کمک روش‌های تشخیصی سرولوژیکی یا ویروس‌شناسی نشان داد که چالش میدانی رخ داده است یا خیر زیرا پاسخ ایمنی ناشی از این واکسن‌ها با پاسخ ایمنی ناشی از عفونت طبیعی و فعال متفاوت است. با این حال هیچ وقت برای مقابله با آنفولانزای فوق حاد (HPAI) از استراتژی DIVA استفاده نمی‌شود.

لذا، واکسیناسیون آنفلوانزای فوق حاد طیور توسط واکسن‌های موجود می‌تواند به بهبود سلامت جامعه و اقتصاد کشورمان کمک کند و باید به عنوان یک اولویت مهم در صنعت طیور و بهداشت عمومی در نظر گرفته شود.

فهرست منابع

1. Simancas-Racines A, Cadena-Ullauri S, Guevara-Ramirez P, Zambrano AK, Simancas-Racines D. Avian Influenza: Strategies to Manage an Outbreak. Pathogens. 2023;12(4).

.2 Kirkeby C, Ward MP. A review of estimated transmission parameters for the spread of avian influenza viruses. Transbound Emerg Dis. 2022;69(6):3238-46.

.3 Yang W, Liu X, Wang X. The immune system of chicken and its response to H9N2 avian influenza virus. Vet Q. 2023;43(1):1-14.

.4 Alqazlan N, Astill J, Raj S, Sharif S. Strategies for enhancing immunity against avian influenza virus in chickens: a review. Avian Pathol. 2022;51(3):211-35.

.5 Lambert S, Bauzile B, Mugnier A, Durand B, Vergne T, Paul MC. A systematic review of mechanistic models used to study avian influenza virus transmission and control. Vet Res. 2023;54(1):96.

الزامات امنیت زیستی تیم دامپزشکی در مراجعه به اماکن پرورش و نگهداری دام

لیلا پیشرفت ثابت[1]، زهرا برادران سید[1]*

۱- عضو هیئت علمی (استادیار)، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج ، ایران.

* نویسنده مسئول: زهرا برادران سید z.bseyed@rvsri.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۰۹

چکیده

امنیت زیستی در واحدهای پرورش و نگهداری حیوانات، شامل مجموعه‌ای از اقدامات مدیریتی و فیزیکی طراحی شده برای کاهش خطر ورود، استقرار و گسترش عفونت و آلودگی است. این امر مستلزم اتخاذ نگرش‌ها و اعمال رفتارهایی توسط ذی‌نفعان برای کاهش خطر در تمام فعالیت‌های مرتبط با زنجیره تولید است. پرسنل دامپزشکی که از مزارع بازدید می‌کنند، اغلب در تماس نزدیک با حیوانات آلوده هستند و بین مراکز مختلف نگهداری دام تردد دارند. خطر ورود و گسترش بیماری‌های عفونی توسط این افراد بالا است و ضروری است نه تنها خود اصول امنیت زیستی را به درستی رعایت کنند، بلکه به عنوان الگو در ارتقای نگرش و بهبود رفتار سایر ذی‌نفعان ایفای نقش کنند. در مقاله پیش‌رو، در ابتدا امنیت زیستی و اصول آن بیان شده‌اند. سپس، به صورت گام‌به‌گام، مراحل پیاده‌سازی امنیت زیستی در زمان مراجعه به واحدها واماکن پرورش و نگهداری دام، به تفضیل شرح داده شده‌اند.

واژگان کلیدی

امنیت زیستی، تیم دامپزشکی، برون‌داشت زیستی، حیطه‌بندی زیستی، مهار زیستی

بیان مسئله و اهمیت موضوع

امنیت زیستی در حقیقت اتخاذ مجموعه‌ای از نگرش‌ها و رفتارها است که خطر ورود و گسترش عوامل بیماری‌زا و پیامدهای ناشی از آن را می‌کاهد (۱-۲). تعریف امنیت زیستی و ساختار و تمرکز برنامه‌های آن در طول زمان تکامل یافته‌اند تا با دقت بیشتری نیازهای مصرف‌کنندگان، تیم‌های دامپزشکی، تولیدکنندگان و صاحبان حیوانات را منعکس کنند. سه اصلی که در این ارتباط مطرح می‌شوند عبارتند از:

۱. برون‌داشت زیستی (Bioexclusion): پیشگیری از ورود عامل بیماری به اماکن پرورش و نگهداری و یا جمعیت حیوانی

۲. حیطه‌بندی زیستی (Bio-compartmentation): پیشگیری از گسترش بیماری در داخل اماکن پرورش و نگهداری و یا جمعیت حیوانی

۳. مهار زیستی (Biocontainment): پیشگیری از گسترش بیماری به خارج از اماکن پرورش و نگهداری و یا جمعیت درگیر (۳).

سطوح اقدام امنیت زیستی را می‌توان بر حسب حیوان/ جمعیت حیوانات، نهادهای اقتصادی درگیر، مناطق جغرافیایی و مخاطبین در نظر گرفت. اگرچه امنیت زیستی هم‌چنان بر اصول پیشگیری استوار است، برنامه‌های کنترل بیماری در سال‌های اخیر بر محدود کردن هر چه بیشتر پیامد ناشی از مواجهه تاکید دارند (۲).

اصول امنیت زیستی شامل اصول عمومی و اختصاصی هستند. اصول عمومی برای تمامی افراد و تمامی مقاطع زمانی طراحی، اجرا و ارزیابی می‌شوند. اصول اختصاصی امنیت زیستی بر اساس گروه هدف، نوع مداخله، سطح ریسک بر اساس نوع مخاطرات از جمله عوامل بیماری‌زای فعال در منطقه، میزان تراکم و سیستم پرورش، طراحی، اجرا و ارزیابی می‌شوند.

مزایای یک برنامه امنیت زیستی مؤثر شامل بهداشت عمومی، بهینه‌سازی سلامت و رفاه حیوانات و بهبود بهره‌وری و ارزش محصول نهایی، کاهش زیان‌های اقتصادی و تجارت ایمن منطقه‌ای و بین‌المللی است. اگرچه اجرای یک طرح یا برنامه جامع امنیت زیستی دارای مزایای آشکار است، ولی استراتژی‌های مداخله بر اساس کارایی اقتصادی و بیولوژیکی آن‌ها انتخاب می‌شوند. تخصیص منابع و سطح اقدامات باید از نظر اقتصادی (دام، طیور، آبزیان و زنبور عسل) یا احساسی (حیوانات همراه مانند حیوانات خانگی) توجیه‌پذیر باشند. صرف هزینه و اجرای سخت‌گیرانه دستورات امنیت زیستی در مواردی مانند شرایط بازپدیدی و نوپدیدی، طغیان بیماری‌ها، در زمانی که مسئله از ابعاد امنیتی (بیوتروریسم) برخوردار است و تبعات قابل‌توجه برای سلامت انسان، رفاه حیوانات و یا ثبات اقتصادی به دنبال دارد، کاملا ضروری هستند (۲، ۳، ۴).

دستورالعمل‌های بسیار مفصلی برای رعایت اصول امنیت‌زیستی در داخل واحدهای پرورشی دام در دسترس هستند. این موارد عمدتا در قالب تحلیل زیان و کنترل نقاط بحرانی (HACCP-based quality risk management) و یا همراه با آن در نظر گرفته می‌شوند و باید توسط کلیه افراد و عوامل اثرگذار در زمان حضور و اشتغال در محیط (دامداری، دامپروری، اصطبل، پانسیون و ...) رعایت شوند (۵، ۶، ۷). پرورش‌دهنده و صاحب حیوانات مسئول نظارت بر حسن اجرای اقدامات امنیت‌زیستی در جغرافیای مزارع پرورش و نگهداری دام‌ها است. نکته کلیدی توجه به این مسئله است که از نظر پرورش‌دهنده، هر نوع مراجعه‌کننده باید کاملا آلوده در نظر گرفته شود و خط حائل / جداکننده (Separation line) را برای برون‌داشت زیستی اعمال کند.

حسن اجرای اقدامات امنیت زیستی در خارج از واحد که نقطه بسیار بحرانی است، به عهده مراجعه‌کننده است و دامدار امکان دخالت و نظارت در خارج از جغرافیای واحد تحت مدیریت خود را ندارد. در گروه مراجعه‌کنندگان، تیم‌های دامپزشکی بیشترین ریسک انتقال عوامل بیماری‌زا را بین واحدهای پرورش دارند. اگر تیم دامپزشکی اقدامات امنیت زیستی را در زمان خروج از واحد قبلی به درستی انجام داده باشد (مهار زیستی)، از خطر ورود آلودگی به واحد بعدی (برون‌داشت زیستی) کاسته می‌شود. در نوشتار پیش‌رو، شرح وظایف تیم دامپزشکی در خارج از جغرافیای واحد مدنظر است. رعایت قواعد امنیت‌زیستی و مدیریت خطر توسط هر دو گروه افراد ساکن/ شاغل و مراجعه‌کننده در داخل واحد (حیطه‌بندی زیستی)، به قوت خود باقی است، ولی در این مجموعه پوشش داده نشده است. هم‌چنین امنیت زیستی در فعالیت‌های آزمایشگاهی تحت عنوان مدیریت خطر زیستی (Biorisk management) تعاریف و دستورالعمل‌های جداگانه‌ای می‌طلبد که مورد هدف این نوشتار نیستند.

دستاورد

پرسنل دامپزشکی (دامپزشکان و پیرا دامپزشکان، گروه‌های واکسیناتور) که از مزارع بازدید می‌کنند، اغلب در تماس نزدیک با حیوانات آلوده هستند و بین محل‌ها تردد دارند. این گروه از افراد خطر بالایی در ورود و گسترش بیماری‌های عفونی ایجاد می‌کنند و نقش تعیین‌کننده در هر دو حوزه برون‌داشت زیستی و مهار زیستی ایفا می‌کنند. پرسنل دامپزشکی باید الگو باشند و به منظور تشویق دامداران به اتخاذ شیوه‌های مشابه، اقدامات امنیت زیستی را به درستی و با دقت اجرا کنند (۱، ۲، ۸).

اصول امنیت زیستی خوب نباید فقط در طول شیوع یک

بیماری عفونی مسری اجرا شوند، بلکه باید در هنگام بازدید از مکان‌های مشکوک نیز به طور کامل رعایت شوند. به علل مختلف از جمله دفع عامل بیماری‌زا در دوره کمون بیماری، تنوع سطح محافظت جمعی، طبیعت بسیار متغیر تظاهرات بیماری، امکان تکیه صرف بر تشخیص بالینی وجود ندارد، لذا به کارگیری اقدامات امنیت زیستی پایه در هر بازدید عادی از محل نگهداری حیوانات ضروری است.

با رعایت سه اصل ذکر شده در امنیت زیستی اهداف زیر محقق می گردند:

- عدم معرفی عفونت/آلودگی به واحد پرورش/نگهداری دام (برون داشت زیستی).
- ممانعت از انتشار عوامل پاتوژن در داخل واحد پرورش/ نگهداری دام (حیطه‌بندی زیستی).
- جلوگیری از گسترش عفونت/آلودگی از یک واحد به واحد دیگر (مهار زیستی).

سه اصل کلیدی امنیت زیستی جهت دستیابی به اهداف فوق شامل جداسازی، تمیزی و ضدعفونی می‌باشد که در ادامه شرح داده می‌شوند (۱، ۶، ۹) :

۱- جداسازی (Segregation)

بسیاری از بیماری‌ها (عفونت‌ها) نه تنها توسط دام‌های آلوده منتقل می‌شوند، بلکه توسط افرادی که با هدف تامین خوراک، بستر، سوخت و تجهیزات، جمع‌آوری شیر و کود، خرید دام و یا اقدامات بهداشتی-درمانی و متفرقه بین مراکز پرورش در ترددند، قابل انتقال هستند. چکمه/ کفش، البسه، دست‌های آلوده یا افراد بیمار (در بیماری‌های مشترک)، همین‌طور وسایل نقلیه از جمله راه‌های غیر دامی در انتقال عوامل بیماری‌زا هستند.

به عنوان یک اصل عمومی، اگر عامل بیماری با افراد، حیوانات یا حتی تجهیزات تماس مستقیم و غیرمستقیم نداشته باشد، پخش نمی‌شود. موثرترین مرحله امنیت زیستی جداسازی است. بدین منظور ضروری است که مناطق «تمیز» و «کثیف» را جدا نگه داشت و تا حد امکان تجهیزات کمتری را به مناطق کثیف/آلوده برد و بالعکس از بردن وسایل و تجهیزات غیر ضروری از منطقه آلوده به مناطق تمیز خودداری نمود.

جداسازی می‌تواند به شیوه فیزیکی (دیوار، درب، عدم تماس)، زمانبندی (فواصل بین مراجعات) و یا عملکردی (تعویض البسه) صورت گیرد. تیم‌های دامپزشکی به خصوص در طغیان بیماری‌ها و به علت فشار کاری، امکان اعمال فاصله زمانی بین مراجعات را ندارند. از این رو دو شیوه جداسازی فیزیکی و عملکردی بسیار ضروری هستند.

۲- تمیز کردن (Cleaning)

در مرحله تمیز کردن/پاک‌سازی، هدف اصلی از بین بردن آلودگی با حذف مواد آلی مانند کود از اقلام یا تجهیزات، البسه، کفش‌ها، افراد و حیوانات است. سپس، از مواد شوینده (دترجنت) کمک گرفته می‌شود. تمیز کردن آلودگی باید پیش از ضدعفونی انجام شود، زیرا مواد ضدعفونی در حضور کود، بیوفیلم و مواد آلی اثرگذار نیستند. در این مرحله پس از پاک کردن کثیفی‌های ظاهری می‌توان از ماده شوینده بهره برد. پس از مرحله پاک‌سازی، لازم است محل خشک شود تا رطوبت و آب باقیمانده در مرحله ضدعفونی مانع از اثرگذاری کامل ماده ضدعفونی نشود. اگر امکان خشک کردن کامل وجود ندارد، باید حجم/ غلظت ماده ضدعفونی کننده را افزایش داد.

۳- ضدعفونی (Disinfection)

این مرحله به معنی از بین بردن هر عامل میکروبی باقی‌مانده با استفاده از مواد ضدعفونی‌کننده مناسب است. نوع ماده ضدعفونی، نحوه آماده‌سازی آن و مدت زمان تماس با سطح مورد نظر، در نتیجه حاصل، بسیار اثرگذار است. زمان تماس مورد نیاز با توجه به ماده ضدعفونی‌کننده انتخابی، پاتوژن و سایر عوامل مانند دمای محیط، متفاوت خواهد بود. حفظ رطوبت در طی مدت تماس با موضع ضروری است. ماده انتخابی باید وسیع‌الطیف باشد و مطابق دستورالعمل سازنده مصرف شود. باید توجه داشت که برخی از مواد ضدعفونی‌کننده ممکن است به البسه و فلزات آسیب رسانند و برای سلامتی انسان مضر باشند. باید از ورود این مواد به منابع طبیعی و آب جلوگیری کرد.

دستورالعمل امنیت زیستی برای تیم دامپزشکی در مراجعه به اماکن پرورش و نگهداری دام (۷، ۹، ۱۰)

میزان سخت‌گیری در اجرای اقدامات امنیت زیستی بر اساس سطح ریسک واحد تعریف می‌شود. نوشتار حاضر در شرایط سطح ریسک متغیر (سطح محافظت ۲) در مراجعه به واحدهایی که احتمال وجود بیماری عفونی و قابل انتقال هست، قابل اجرا است. به عنوان مثال، اگر احتمال درگیری واحد پرورش به بیماری زئونوز پرخطر وجود داشته باشد، سطح محافظت ۳ و ۴ است و تجهیزات مازاد جهت محافظت فردی مورد نیاز است و مراجعه باید تحت نظارت مقامات دولتی-محلی صورت گیرد (جدول شماره ۱) (۸).

۱- قبل از مراجعه به محل

- تمام تجهیزات غیر ضروری را از وسیله نقلیه خود خارج کنید.
- بخش‌های داخلی و صندوق وسیله نقلیه خود را به مناطق تمیز و کثیف تقسیم کنید (تصویر شماره ۱).
- هر دو ناحیه را با پوشش نایلونی بپوشانید.

جدول شماره ۱- سطوح ریسک و محافظت مورد نیاز (۸)

خطر و سطح محافظت	توضیح	تجهیزات حفاظت شخصی پیشنهادی و روش آلودگی زدایی
ریسک کم سطح محافظت ۱	حداقل مواجهه با عوامل عفونی	اقدامات بهداشت فردی مانند شستن دست‌ها پس از تماس با هر حیوان یا پوشیدن دستکش درآوردن لباس‌های سرپوشیده در پایان بازدید از محل، شستن دست‌ها، صورت و چکمه‌ها در هنگام خروج
ریسک متغیر سطح محافظت ۲	مواجهه بالقوه با عوامل عفونی	علاوه بر اصول قبلی، تجهیزات حفاظت شخصی مناسب باید به کار رود؛ بسته به شرایط، باید فرایندهای آلودگی‌زدایی و ضدعفونی اعمال شوند. پوشش‌های محافظ، چکمه و دستکش استفاده شود.
ریسک بالا سطح محافظت ۳	مواجهه بالقوه با عامل عفونی اگزوتیک و یا بیماری زئونوز پرخطر	تجهیزات حفاظت شخصی سطح پیشرفته باید استفاده شود. اصول سه گانه امنیت زیستی متناسب با - ریسک باید اعمال شود. به مقامات ذی‌صلاح گزارش داده شود.
ریسک خیلی بالا سطح محافظت ۴	مواجهه محتمل با عامل عفونی اگزوتیک و یا بیماری زئونوز پرخطر	در اسرع وقت جهت دریافت دستورات امنیت زیستی متناسب با ریسک، با مقامات ذی‌صلاح دولتی تماس گرفته شود.

۲- تعیین محدوده حائل امنیت زیستی

- وسیله نقلیه خود را در محلی به دور از هرگونه آلودگی احتمالی پارک کنید.
- واحد پرورشی باید دارای درب ورودی و حصار جهت کنترل ورود/خروج افراد و حیوانات باشد (نظارت بر حسن اجرا).
- مناطق تمیز و کثیف را مشخص کنید. یک منطقه حائل بین ناحیه «تمیز» و «کثیف» شناسایی کنید (تصویر شماره ۲).
- نقطه حائل و محل ضدعفونی باید در یک منطقه تمیز، خشک و هموار، به طور ایده‌آل روی بتن باشد.
- سطح را با پوشش نایلونی/برزنتی بپوشانید.
- تمام تجهیزات مورد نیاز خود را همراه با لباس محافظ همراه داشته باشید. (در صورت استفاده از لباس اختصاصی موجود در واحد پرورشی، ضروری است در زیر آن، لباس محافظ شخصی به تن داشته باشید که پس از خروج طبق دستورالعمل ادامه، جهت تمیزی و ضدعفونی تعویض شود).

لیست تجهیزات رایج جهت برقراری امنیت زیستی، ویژه تیم‌های دامپزشکی در جدول شماره ۲ آمده است.

- یک سطل حاوی مواد شوینده و یک سطل حاوی مواد ضدعفونی‌کننده را در سمت کثیف قرار دهید و یک سطل ضدعفونی‌کننده را در سمت تمیز بگذارید.
- ضدعفونی کننده باید استاندارد و مورد تایید باشد و غلظت مناسبی از آن تهیه گردد. ماده ضدعفونی را مطابق دستورالعمل سازنده آماده کنید.

تصویر شماره ۱- تعیین منطقه تمیز و کثیف در وسیله نقلیه (۹)

تصویر شماره ۲- تعیین محدوده حائل (۹)

جدول شماره ۲- لیست تجهیزات پایه در مراجعه به اماکن پرورش و نگهداری حیوانات.

تن‌پوش	توضیحات
لباس محافظ یکبار مصرف داخلی	۱ دست به ازای هر مراجعه و از طریق سیستم دفع پسماند بر اساس سطح ریسک امحا شود
لباس محافظ ضدآب خارجی (بسته به شرایط جوی)	۱ دست (به شرط ضدعفونی و خشک شدن قابل استفاده در مراجعات متعدد)
چکمه‌های لاستیکی	۱ جفت به شرط ضدعفونی و خشک شدن قابل استفاده در مراجعات متعدد (در صورتی که از چکمه واحد پرورشی استفاده می‌شود، باید پوشش محافظ در زیر آن استفاده شود و شرایط ضدعفونی کفش به شرط ورود به محل کثیف، مطابق چکمه خواهد بود)
روکش چکمه ضخیم	۱ جفت. در شرایط استفاده از چکمه واحد پرورشی، یک روکش روی کفش شخصی و یک روکش باید داخل چکمه پوشیده شود
دستکش لاتکس	حداقل ۲ جفت برای هر واحد
تجهیزات پاکسازی و ضد عفونی	**توضیحات**
سطل برای تمیز کردن	۳ عدد
ماده شوینده (دترجنت)	به مقدار لازم
ماده ضدعفونی‌کننده مناسب	به مقدار لازم
برس‌های اسکراب	۳ عدد
دستمال مرطوب	به مقدار لازم
پیچ گوشتی (برای تمیزکردن کف چکمه‌ها از آلودگی)	۱ عدد
اسفنج	۱ عدد
تجهیزات اضافی	**توضیحات**
پوشش نایلونی	۲×۳ متر، در صورت ضدعفونی باید پیش از استفاده مجدد خشک شود
کیسه‌های ضد آب در اندازه‌های مختلف	به تعداد لازم
نوار چسب و قیچی	۱ عدد از هر کدام
تجهیزات نمونه‌برداری و جابجایی	به تعداد لازم
دستمال کاغذی	به تعداد لازم

۳- ورود به محل

- همه اقلام غیر ضروری را در خودرو بگذارید.
- هرگونه تجهیزات الکترونیکی را در پوشش‌های ضد آب مناسب قرار دهید تا بتوان از آن‌ها در واحد استفاده کرد و قبل از خروج از محل ضد عفونی شوند (تصویر شماره ۳-A).
- استفاده از فرم‌های الکترونیک جایگزین را در دستور کار قرار دهید تا در زمان حضور، نیاز به کاغذ به حداقل برسد.
- کفش‌های خود را در بیارید و آن‌ها را در قسمت تمیز محدوده حائل بگذارید.
- لباس محافظ یک‌بار مصرف داخلی را بپوشید.
- یک لباس ضدآب بیرونی، با یک پارچه بادوام و ترجیحا ضدآب با قابلیت خشک‌شدن سریع بپوشید (اگر شرایط آب و هوایی ایجاب می‌کند) (تصویر شماره ۳-B).
- چکمه بپوشید. پاچه شلوار یک بار مصرف را داخل چکمه‌ها قرار دهید در حالی‌که لبه شلوار ضدآب روی چکمه‌های شما قرار می‌گیرد. اگر فقط یک دست لباس یکبار مصرف می‌پوشید، لبه شلوار باید در قسمت بیرونی چکمه‌ها قرار بگیرد (تصویر شماره ۳-C).
- روکش‌های کفش را روی چکمه‌ها بپوشید، این روکش‌ها، پوشش‌های پلاستیکی بلندی هستند که کل چکمه را می‌پوشانند. هدف کاهش زمان لازم برای تمیز کردن چکمه‌ها است. توجه داشته باشید که برای چکمه، روکش‌های پلاستیکی ضخیم لازم هستند تا به راحتی پاره

نشوند (تصویر شماره ۳-D).
- دو جفت دستکش یکبار مصرف باید پوشید، به طوری که جفت داخلی با نوار چسب به لباس محافظ یکبار مصرف داخلی متصل می‌شود تا پوست دست با محیط خارج در تماس نباشد. دستکش دیگر روی دستکش اولی پوشیده شود. برای دستکش دوم نیاز به استفاده از چسب نیست تا در صورت کثیف و یا پاره شدن، بلافاصله قابل تعویض باشد (تصویر شماره ۳-E). همراه داشتن دستکش‌های یدکی متعدد ضمن کار مفید است، زیرا ممکن است واحد پرورشی فاقد امکانات امنیت‌زیستی باشد.

۴- خروج از محل

- در صورت امکان قبل از رسیدن به محدوده حائل، از امکانات داخل واحد برای پاک کردن آلودگی از خود و وسایل‌تان استفاده کنید.
- اطمینان حاصل کنید که تمام نمونه‌های اخذ شده به درستی و طبق دستورالعمل‌های ملی در ظرف‌های مناسب جمع‌آوری و بسته‌بندی شده‌اند و بخش خارجی به شیوه صحیح تمیز و ضدعفونی گردیده است (تصویر شماره ۴-A).
- پوشش ضدآب که تجهیزات الکترونیکی را در بر می‌گیرد را ابتدا با مواد شوینده و سپس با مواد ضدعفونی‌کننده تمیز کنید. فرم‌های کاغذی باید در کاور و کیسه‌های ضدآب قرار داده شده، سپس ضدعفونی شوند.
- روکش‌های کفش خود را در بیاورید: در کیسه‌هایی که در قسمت کثیف محل ضدعفونی برای امحا گذاشته‌اید، قرار دهید (تصویر شماره ۴-B).
- چکمه‌های خود را تمیز کنید: پاچه لباس ضدآب خود را جمع کنید و ابتدا از مواد شوینده استفاده کنید و تمام کثیفی‌های قابل مشاهده را پاک کنید. مطمئن شوید که کف چکمه‌های شما کاملا تمیز شده است - یک پیچ گوشتی می‌تواند به پاک کردن کثیفی از کف کمک کند (تصویر شماره ۴-C).
- کل لباس ضدآب بیرونی خود را با مواد شوینده و برس بشویید تا همه آلودگی‌های ظاهری پاک شوند (تصویر شماره ۴-D).
- لباس بیرونی خود را درآورید، درحالیکه لباس داخلی را هم‌چنان به تن دارید و مجدد پا را داخل چکمه گذاشته‌اید، البسه خارجی را کاملاً در سطل ماده ضدعفونی کننده در سمت کثیف فرو کنید (تصویر شماره ۴-E).
- دستکش‌های بیرونی خود را در بیاورید. چکمه‌ها، سطح خارجی دستکش‌های داخلی و لباس داخلی (در صورت ضدآب بودن) را با ماده ضدعفونی طرف کثیف و با کمک برس ضدعفونی کنید (تصویر شماره ۴-F).
- به سمت تمیز محدوده حائل بروید و دوباره چکمه‌ها را در سطل آن سمت ضدعفونی کنید.
- لباس محافظ داخلی خود را درآورید (ابتدا باید نوارچسب

تصویر شماره ۳- مراحل پوشیدن لباس محافظ؛ ©EuFMD (۹)

را از دستکش داخلی بردارید). لباس یکبار مصرف را در یک کیسه در سمت کثیف برای امحا قرار دهید (تصویر شماره ۴-G).
- دستکش‌های داخلی خود را با همان روشی که برای دستکش‌های بیرونی‌تان انجام دادید، در بیاورید و در یک کیسه زباله در سمت کثیف قرار دهید (تصویر شماره ۴-H).
- دست‌ها و عینک (در صورت استفاده) و همچنین صورت خود را با استفاده از دستمال‌های مرطوب ضدعفونی‌کننده و یا با ماده ضدعفونی که در سمت تمیز قرار داده‌اید (مناسب تماس با پوست)، ضدعفونی کنید.
- تجهیزات و نمونه‌ها باید در دو کیسه جداگانه قرار گیرند و با نوار چسب مهر و موم شوند.
- اگر از سطل‌های خودتان استفاده کردید، این سطل‌ها نیز باید ضدعفونی شوند و قبل از قرار دادن در ماشین در دو کیسه قرار گیرند. اگر از سطل‌های واحد استفاده کرده‌اید، باید در سمت کثیف رها شوند.
- تمام کیسه‌ها و تجهیزات (از جمله پوشش نایلونی) در سمت کثیف باید رها شده تا توسط افراد واحد، امحا شوند (تصویر شماره ۴-I). تمام کیسه‌های باقی‌مانده در سمت تمیز، باید در قسمت کثیف وسیله نقلیه شما قرار گیرند.

۵- ضدعفونی کردن خودرو

- نمای بیرونی وسیله نقلیه خود را با استفاده از شلنگ آب (در صورت وجود) و اسفنج تمیز کنید تا تمام کثیفی‌های قابل مشاهده از جمله قوس چرخ‌ها و لاستیک‌ها پاک شوند.
- قسمت بیرونی خودرو را با مواد ضدعفونی کننده اسپری کنید.

۶- پس از خروج از مزرعه

- در اسرع وقت پس از بازدید، نمونه‌ها را برای بررسی تکمیلی پاراکلینیک ارجاع دهید؛ مراقب باشید قبل از تمیزکردن و ضدعفونی بیشتر، با تجهیزات تمیز در تماس نباشید.
- هنگامی که همه زباله‌ها را بر اساس اصول مدیریت پسماند امحا نمودید، داخل خودرو را تمیز کنید.
- فرمان، دسته دنده، پدال‌ها، ترمز دستی، جای پا و غیره را با پارچه آغشته به ماده ضدعفونی و یا اسپری تمیز و ضدعفونی کنید.
- اگر حیوانات مستعد بیماری عفونی را ویزیت نکردید، می‌توانید به خانه برگردید و دوش بگیرید.
- البسه‌ای که در مزرعه پوشیده می‌شوند، باید به مدت کافی در ماده ضدعفونی برابر دستورالعمل کارخانه تولیدکننده،

تصویر شماره ۴- مراحل در آوردن لباس محافظ؛ ©EuFMD (۹)

غوطه‌ور و سپس در دمای بالا (حداقل ۶۰ درجه سانتی‌گراد) شسته شوند. انتخاب ماده متناسب با طیف عوامل بیماری‌زایی است که محتمل است در منطقه و واحد پرورش شایع باشند.

- اگر صاحب حیوان خانگی مستعد آلودگی با عامل بیماری عفونی هستید، نباید به خانه برگردید، و اقدامات فوق باید در مکان دیگری انجام شوند.
- تا پیش از ضدعفونی کامل نباید از مکان‌های دیگری که دارای جمعیت مستعد ابتلا هستند، بازدید کنید.

توصیه ترویجی

- طیف وسیعی از خطرات بیولوژیک در جمعیت‌های حیوانی، انسانی، گیاهی و زیست‌محیطی با استفاده از امنیت زیستی قابل مدیریت هستند. بسنده کردن به پیشگیری از یک بیماری خاص، اتلاف منابع است. برای اطمینان از اینکه همه خطرات به درستی پوشش داده شده‌اند، رویکرد باید فراگیر باشد.
- باید لیستی از اقدامات پایه امنیت زیستی را برای گروه‌های مختلف ذی‌نفعان بر اساس سطح خطر و مواجهه، تعریف و در فرایند رو به بهبود در جهت پیاده‌سازی آن‌ها مرحله به مرحله اقدام کرد. پیاده‌سازی امنیت‌زیستی را باید با اصول اولیه و پیش نیازها (به عنوان مثال، اقدامات بهداشتی خوب، جداسازی کثیف از تمیز) شروع کرد. تطابق دستورات با امکانات محدود محلی ضروری است، ولی نباید به بهانه سختی اجرا و یا فشار کاری از اجرای آن‌ها سر باز زد.
- انتظار پیاده‌سازی اصول امنیت‌زیستی از گروه‌های دامپزشکی به مراتب بیشتر از سایر ذی‌نفعان است و نباید تحت تاثیر فشار کاری و یا هر دلیل دیگر، بی‌اهمیت جلوه کند. این افراد باید به عنوان الگو در بهبود نگرش و ترویج رفتار درست پیش‌قدم باشند. مورد انتظار است تیم دامپزشکی تمهیدات، تامین تجهیزات و اجرا را راسا به عهده بگیرد و انتظار تامین محدوده حائل بیوسکوریتی، مواد شوینده و ضدعفونی و تجهیزات حفاظت شخصی را از واحد پرورشی، در خارج از محل جغرافیایی، نداشته باشد.

فهرست منابع

1. EuFMD. Microlearning of Biosecurity, FMD. 2023.
2. Torremorell M. Principles of Biosecurity of Animals. MSD Veterinary Manual 2022.
3. Renault V, Humblet M-F, Saegerman C. Biosecurity concept: origins, evolution, and perspectives. Animals. 2021;12 (1): 63.
4. Greru C, Thompson R, Gowthaman V, Shanmugasundaram S, Ganesan N, Murthy T, et al. A visualization tool to understand disease prevention and control practices of stakeholders working along the poultry supply chain in southern India. Humanities and Social Sciences Communications. 2022;9 (1):1-10.
5. Noordhuizen J, da Silva JC, Boersema S-J, Vieira A. Applying HACCP-based quality risk management on dairy farms: Wageningen Academic Publishers; 2007.
6. USDA-FAD-PReP. NAHEMS guidelines: Cleaning and disinfection. 2014.
7. USDA-FAD-PReP. NAHEMS Guidelines: Biosecurity. 2016.
8. Australian Veterinary Association. Guidelines for veterinary personal biosecurity. St Leonards, NSW. 2017.
9. EuFMD. Guidelines for biosecure entry-exit during a foot-and-mouth disease investigation. 2023.
10. EuFMD. Microlearning of how to set up a biosecurity line. 2023.