بررسی آثار پاتولوژیک و زمان ماندگاری ویروس تب برفکی در اندام‌های خوکچه هندی

ایرج سهرابی‌حقدوست[۱]، محمدحسن حبل‌الورید[۲]، همایون مهروانی[۳]، محمد اسلام‌پناه[۴*]، حسن ایزدی[۵]

چکیده

جهت عادت پذیری به ویروس تب برفکی در دوره های زمانی متفاوت به ۱۰ سر خوکچه هندی در کف پای آنها به روش داخل پوستی تزریق گردید . بعد از دیدن علایم دال بر عمومی شدن و تهیه ویروس عادت داده شده به حیوان ، ۳۰ سر خوکچه هندی دیگر را به ۵ گروه شش تایی تقسیم نموده که در هر گروه به پنج خوکچه ویروس عادت داده شده و به یک خوکچه به عنوان شاهد سرم فیزیولوژی تزریق شد . در ادامه در روز های دوم ، چهارم ، چهاردهم ، یک ماه و دو ماه پس از دیدن علایم عمومی شدن ویروس در بدن حیوان به روش انسانی کشته شده و نمونه ها از ارگان‌های مختلف شامل : قلب ، ریه ، کبد ، طحال ، لوزه المعده ، اپی تلیوم کف پا ، عقده لنفی پشت حلقی ، اپی تلیوم زبان، عقده لنفی مغابنی برداشت شد که بخشی از نمونه ها جهت بررسی آسیب شناسی بعد از ثبوت در فرمالین وتهیه بلوک پارافینه و گرفتن مقاطع ۵ میکرونی با روش هماتوکسیلین وائوزین رنگ آمیزی شده و بخشی دیگر از نمونه ها بعد از صلایه و سانتریفوژ، آماده شده و به روش ساندویچ الیزا میزان ویروس در هر یک از ارگان ها ردیابی شد. بر اساس مطالعه ما حداکثر جراحات ناشی از ویروس تب برفکی به ترتیب دراپی تلیوم کف پا، ریه،اپی تلیوم زبان، وطحال مشاهده شد که شامل : واکوئوله شدن اسفنجی شکل داخل سلولی ،پیکنوز سلول طبقه خاردار و ادم بین سلولی در طبقه خارداراپی تلیوم کف پا و زبان ، همچنین افزایش دیواره بین آلوئولی ریه و کاهش پولپ سفید در مقایسه با حیوانات شاهد ملاحظه شد که نتایج بیانگر این است که دو روز پس از تزریق مقدار کمی ویروس فقط در طحال ردیابی شده و در چهار روز پس از تزریق در ارگان‌های : قلب، ریه، لوزه المعده ، اپی تلیال کف پای تزریق نشده ویروس مشاهده شد که مقدار ویروس کف پا بیشتر از سایر ارگان‌ها است ، دو هفته پس از تزریق در همه ارگان‌ها حضور ویروس ردیابی شد که حداکثر میزان ویروس در اپی تلیوم کف پا تزریق نشده شناسایی شد که در ریه ، کبد و عقده لنفی مغابنی به ترتیب حضور ویروس ردیابی شد، یک ماه پس از تزریق ویروس در هیچ یک از ارگان‌ها یافت نشد. دو ماه پس از تزریق نیز در هیچ ارگانی ردیابی نشد . در ضمن حضور ویروس در اپی تلیوم کف پا، ریه، اپی تلیوم زبان منجر به آثار پاتولوژیک گردید که تطابق نتایج حاکی از همپوشانی آزمایش الایزا و بررسی پاتولوژی با یکدیگر است.

واژگان کلیدی: *ویروس تب برفکی، خوکچه هندی، ضایعات پاتولوژی، آزمایش الایزا*

تاریخ دریافت: ۹۰/۲/۲ تاریخ پذیرش ۹۰/۶/۱

مقدمه

بیماری تب برفکی (foot-and-mouth disease) یکی از بیماری‌های ویروسی حاد و مسری است که کلیه حیوانات زوج سم نشخوار کننده اعم از اهلی و وحشی را آلوده می‌سازد. عامل بیماری، ویروسی از خانواده پیکورنا ویریده (Picorna viridea) جنس آفتو ویروس (Aphtho virus) می‌باشد. این ویروس بیست وجهی و فاقد پوشش و با قطری در حد ۲۵-۳۰ نانومتر می‌باشد. ریبونوکلئیک اسید (RNA) ویروس، عفونی و دارای مفهوم مثبت است. این بیماری بسیار سریع به حیوانات سالم انتقال یافته و موجب خسارات اقتصادی شدیدی می‌گردد و به همین خاطر در لیست بیماری‌های دامی درجه اول از لحاظ اهمیت، شیوع، انتقال و... قرار گرفته است(۹،۴،۳،۲). هفت سروتیپ و حدود ۸۵ تحت تیپ مجزا از ویروس تب برفکی شناخته شده است. سروتیپ‌های مهم شامل: SAT3، SAT2 ، SAT1 ، C ،Asia1 ، A ، O است. با توجه به تنوع آنتی ژنتیکی سویه‌ها، مبارزه و کنترل بیماری بسیار مشکل است چرا که بهبودی از آلودگی یا مایه‌کوبی حمایتی علیه یک سروتیپ، آلودگی و عفونت با سایر سروتیپ‌ها را تضمین نمی‌کند(۱۱،۱۰). همچنین امکان ایجاد بیماری با مقادیر کم ویروس، سهولت تکثیر ویروس، دفع مقادیر بالای ویروس و سرعت انتقال ویروس توسط باد باعث شده که این بیماری به لحاظ کنترل و ریشه کنی دشوار و پر هزینه

۱ـ گروه پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم وتحقیقات، دانشگاه آزاداسلامی، تهران، ایران
۲ـ بخش پاتولوژی، موسسه تحقیقات سرم و واکسن رازی، کرج ،ایران
۳ـ بخش تب برفکی، موسسه تحقیقات سرم و واکسن رازی ،کرج ،ایران
۴*ـ دانشجوی واحد علوم وتحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران m.islampanah@rvsri.ir
۵ـ بخش تب برفکی، موسسه تحقیقات سرم و واکسن رازی، کرج، ایران

Archive of SID
www.SID.ir

باشد و دامداران نگران خسارت های ناشی از بیماری باشند. در برخی از موارد تشخیص بالینی بیماری تب برفکی مشکل است، بطور مثال علایم بالینی درگوسفند و بزها خفیف می‌باشد (۳،۴،۵،۶،۷). و یا بیماری‌های تاولی مختلفی مانند بیماری تاولی خوک، استوماتیت وزیکولی و عفونت وزی ویروس را نمی‌توان از بیماری تب برفکی تنها بر مبنای یافته‌های کلینیکی تمیز داد. بنا براین جهت تشخیص قطعی بیماری نیاز به بررسی آزمایشگاهی است. خصوصیات منحصر بفرد ویروس تب برفکی (گسترش سریع) این ضرورت را ایجاب می‌نماید که موارد مشکوک گزارش شده را با روش‌های آزمایشگاهی دقیق و سریع بررسی نمایند(۶). کشورهای پاک از تب برفکی تدابیر پیشگیرانه ای را برای حصول اطمینان از عدم ورود ویروس بیماری زا در نظر گرفته اند، زیرا درصورت بروز، بیماری موجب محدودیت در صادرات محصولات دامی می گردد.

از نکات قابل ذکر در مورد بیماری تب برفکی این است که بعد از مرحله حاد ویروس بصورت زنده در عقده لنفاوی پشت حلقی باقی مانده و باعث ناقل شدن دام می گردد. این حالت در حیوانات روبه بهبود و یا در حیوانات مایه کوبی شده ای که ویروس زنده را بروز می دهند آشکار می شود. حداقل زمان جداسازی ویروس بیماری تب برفکی جهت قلمداد کردن حیوان به عنوان دام ناقل ۲۸ روز بعد از بروز آلودگی می باشد (۱۸). گونه های وحشی دام‌های زوج سم مانند آهو و بز کوهی آفریقایی می‌توانند بعنوان ناقل ویروس تب برفکی مطرح باشند. درصد حیوانات ناقل تحت شرایط تجربی متغیر بوده اما متوسط آنها حدود ۵۰ درصد است. تیتر آلودگی ویروس در نمونه‌های مایع حلق ومری از ناقلین پایین است (10-100 TCID50 c./ml). گونه حیوان مبتلا و سوش سروتیپ ویروس، هر دو در گسترش، بقا و انتقال بیماری تعیین کننده هستند، حداکثر مدت ناقل بودن در گونه‌های مختلف به شرح ذیل است: گاو یک سال، گوسفند ۹ ماه، بز ۴ ماه و بوفالوی آفریقایی ۵ سال است. شناخت این حالت و خطر انتقال ویروس با حیوانات ناقل تاثیر شایانی روی طراحی و پیشگیری برنامه‌های راهبردی برای ریشه کنی تب برفکی دارد.

بیماری تب برفکی در قاره‌های آفریقا، آسیا و آمریکای جنوبی، بصورت اندمیک شایع است، با توجه به ریشه‌کن شدن بیماری در قاره اروپا در انگلستان در سال‌های ۲۰۰۱ و ۲۰۰۷ تب برفکی شیوع پیدا کرد که حاکی از اهمیت بیماری است. از آنجاییکه آزمایش کارائی واکسن تب برفکی مستلزم بکارگیری تعداد زیادی گاو می باشد که پس از واکسیناسیون با رقت های مختلف واکسن را علیه ویروس زنده چالنج انجام می کند، و هزینه های بالای استفاده از گاو برای این آزمایش محدودیت استفاده از این حیوان را موجب می شود . بررسی های گسترده درحیوانات کوچک آزمایشگاهی برای استفاده در تحقیقات تب برفکی در اوایل قرن بیستم آغاز شد، اما محققین در سال ۱۹۲۰ با تلقیح بین پوستی در کف پای خوکچه هندی دریافتند که این گونه حساس می باشد (۲۰)، تحقیقات در سال ۱۹۴۹ با مطالعه جزییات بیشتر روی عوامل موثر بر کیفیت ویروس تب برفکی ادامه یافت و همکاران زیادی متعاقبا برای اهداف تحقیقی شامل : آزمایش واکسن از این حیوان استفاده کردند (۱۵،۱۲،۱۷،۸). بعلاوه، خوکچه هندی می تواند به تعداد زیاد مورد استفاده قرار گیرد که از نظر آماری نتایج قابل قبولی را بدست می دهد (۱۴).خوکچه هندی بطور رایج برای تست واکسن تب برفکی و تهیه سرم هایپرایمیون علیه تیپ های مختلف ویروس تب برفکی استفاده می شود.هدف از اجرای این تحقیق، بررسی طول مدت ماندگاری ویروس واینکه این حیوان تا چه مدت ناقل ویروس بوده، همچنین بررسی اثرات پاتولوژیک ناشی از تاثیر ویروس تب برفکی در طی مدت حضور ویروس درارگان‌های مختلف بدن خوکچه‌های هندی نیز ارزیابی گردید.

www.SID.ir

مواد و روش کار:

در این مطالعه تیپ O ویروس تب برفکی با غلظت ۱۰-۱۰مورد استفاده قرار گرفت، ۴۰ سر خوکچه هندی از نژاد پربرایت با وزن حدود ۵۰۰ گرم، از بخش پرورش حیوانات آزمایشگاهی موسسه رازی تهیه شد.

تهیه ویروس عادت داده شده به خوکچه:

۱۰ سر ازخوکچه های هندی جهت آداپته نمودن ویروس به شکل زیر استفاده گردید : ۱ ml از ویروس تیپ O تب برفکی به کف یک پای خوکچه ها تزریق شد، با مشاهده علایم جنرالیزه شدن ویروس شامل : دیدن علایم در کف پای مقابل، ترشحات دهان، بینی، چشم و ضایعات زبان، که حاکی از عادت پذیری ویروس در بدن خوکچه هندی است، که پس از رویت این علایم اپی تلیوم‌ها جمع‌آوری وتا هنگام انجام آزمایش در تامپون گلیسرین نگهداری شد.

آماده کردن بافت‌ها جهت تزریق:

نمونه‌ها مطابق با روش استاندارد(۷) آماده شد و جهت آزمایشات بعدی در۲۰- سانتی گراد نگهداری می شود.

تزریق به خوکچه:

تعداد ۳۰ سر خوکچه هندی به پنج گروه شش تایی تقسیم شدند، به پنج سرخوکچه از هر گروه ویروس تیپ O عادت داده شده در ناحیه کف پای راست تزریق شد. در هر گروه یک خوکچه بعنوان حیوان شاهد در نظر گرفته شد و به آنها سرم فیزیولوژی در کف پای راست تزریق شد.

نمونه گیری:

حیوانات به روش انسانی معدوم شده و نمونه برداری از حیوانات تحت آزمایش بعد از مرحله جنرالیزه شدن ویروس و دیدن علایم جنرالیزه شدن در بدن حیوان در فواصل زمانی روزهای دوم، چهارم؛ چهاردهم و همچنین یک و دو ماه بعد از تزریق انجام شد و نمونه‌های اپی تلیوم‌های کف پا و زبان، قلب، ریه، کبد، طحال، لوزالمعده و همچنین عقده های لنفی مغابنی و پشت حلقی برداشت گردید، و به دو قسمت تقسیم شد. یک قسمت از نمونه‌ها در فرمالین۱۰٪ نگهداری و به بخش آسیب‌شناسی منتقل گردید. بخشی دیگر نمونه‌ها تا هنگام انجام آزمایش در تامپون گلیسیرینه نگهداری و به بخش تب برفکی ارسال شد.

آزمایشات هیستوپاتولوژی و الایزا:

۱- آزمایش هیستوپاتولوژی:

پس از ثبوت نمونه‌ها در فرمالین در بخش آسیب شناسی به روش معمول بلوک های پارافینه تهیه و توسط دستگاه میکروتوم مقاطع ۵ میکرونی از آنها تهیه گردید. سپس لام ها به روش هماتوکسیلین ـ ائوزین (H&E) رنگ آمیزی گردیدند.

۲ - آزمایش الیزا:

قسمت دیگری از نمونه ها اخذ شده نیز جهت ردیابی حضور ویروس در ارگان‌ها در زمان های مذکور با روش ساندویچ الایزا (Sandwich Elisa) به شرح ذیل مورد آزمایش قرار گرفت: که در ابتدا با سرم خرگوشی علیه تیپ O تب برفکی پلیت مخصوص الایزا پوشانده شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از نمونه و ۵۰ میکرولیتر از آنتی ژن کنترل ریخته شد، در مرحله بعد۵۰ میکرولیتر آنتی بادی جستجو گر علیه تیپ های مختلف ویروس تب برفکی افزوده شد سپس ۵۰ میکرولیتر آنتی بادی کونژوگه خرگوشی علیه آنتی بادی خوکچه هندی را ریخته و بعد از این مرحله۵۰ میکرولیتر محلول OPD بعنوان سوبسترای رنگ زا به همه چاهک ها اضافه شد که در ادامه ۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۱/۲۵ نرمال به عنوان محلول متوقف کننده واکنش افزوده شد، در نهایت بعد از ریختن محلول متوقف کننده واکنش پلیت در دو طول موج قرائت شد.

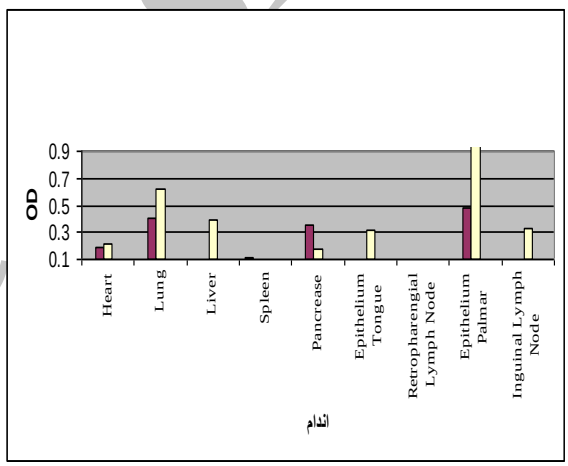
نتایج

نتایج حاصله ازآزمایش الایزا در مورد ردیابی ویروس در ارگان‌های مختلف طبق نمودار به شرح ذیل می‌باشد : دو

Archive of SID

www.SID.ir

روز پس از تزریق مقدار کمی ویروس در طحال مشاهده می‌شود. در چهار روز پس از تزریق در ارگان‌های قلب، ریه، لوزه المعده ، اپی تلیال کف پای تزریق نشده ویروس مشاهده شد که مقدار ویروس کف پا بیشتر از سایر ارگان‌ها است. دو هفته پس از تزریق در همه ارگان‌ها حضور ویروس ردیابی شد، حداکثر میزان ویروس در اپی تلیوم کف پا تزریق نشده و به ترتیب در ریه، کبد، عقده لنفی مغابنی حضور ویروس مشاهده شد. یک ماه پس از تزریق ویروس در هیچ یک از ارگان‌ها یافت نشد. دو ماه پس از تزریق نیز در هیچ یک از ارگان‌ها یافت نشد.

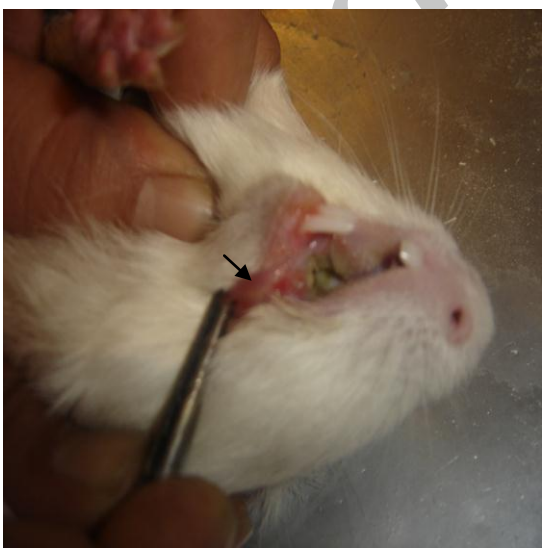


نمودار ۱ـ میزان ویروس ردیابی شده در زمان های معین در اندام‌های مختلف

۲- نتایج بررسی‌های آسیب‌شناسی:

در روز دوم بعد از تزریق هیچگونه علامت ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک درخوکچه‌های گروه کنترل دیده نشد. اما در گروه حیواناتی که به آنها ویروس تزریق شده بود وجود تاول در کف پا و زبان؛ ریزش آبکی از بینی و مرطوب بودن چشمها و ریزش مختصر اشک مشاهده گردید.(تصویر ۱و۲) در بررسی میکروسکوپیک نمونه‌های بافتی؛ در ریه دو سر از خوکچه هندی افزایش اندازه دیواره بین آلوئولی مشاهده شد بعلاوه در طبقه خاردار اپی تلیوم زبان دو سر خوکچه هندی علائم تشکیل فضای تاولی، پیکنوز هسته برخی از سلول‌ها به همراه ادم داخل سلولی ملاحظه گردید. مشاهده فضای تاولی در در طبقه خاردار اپی تلیوم کف پای یک سر خوکچه هندی. از دیگر مشاهدات قابل ذکر در این روز بود. تخلیه خفیف لنفوسیت ها درناحیه پولپ سفید طحال (در مقایسه با خوکچه گروه کنترل) از دیگر مشاهدات میکروسکوپیک در این روز می باشد. در ارگان‌های دیگر تغییری مشاهده نشد.

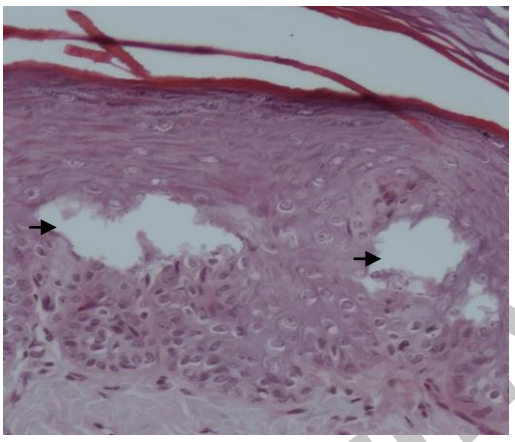
نگاره ۱ـ وجود تاول در کف پای خوکچه هندی پس از تزریق ویروس تب برفکی



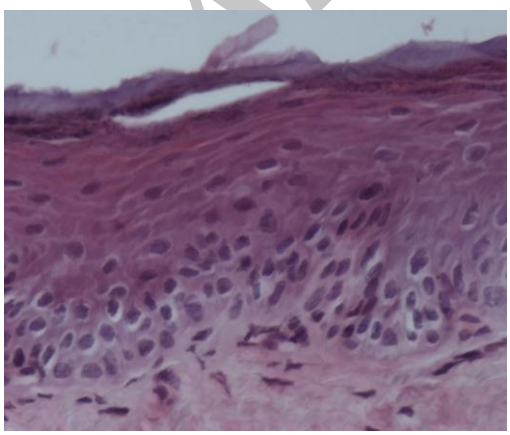
نگاره ۲ـ وجود تاول در زبان خوکچه هندی بعد از تزریق ویروس تب برفکی

www.SID.ir

در روز چهارم بعد از تزریق هیچگونه علامت ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک درخوکچه‌های گروه کنترل دیده نشد. اما در گروه حیواناتی که به آنها ویروس تزریق شده بود تاول در کف پا تزریق نشده و زبان مشاهده گردید. در بررسی میکروسکوپیک؛ در ریه یک سر خوکچه هندی افزایش اندازه دیواره بین آلوئولی در بخشی از ریه مشاهده شد، در طبقه خاردار اپی تلیوم زبان یک سر خوکچه هندی نیز علائمی همچون: پیکنوز هسته در برخی از سلول‌ها بهمراه ادم داخل سلولی ملاحظه گردید. مشاهده فضای تاولی در طبقه خاردار اپی تلیوم کف پای دو سر خوکچه هندی دیگر از مشاهدات در این روز بود. ارگان‌های دیگرفاقد تغییربودند. در دو هفته بعد از تزریق علامت میکروسکوپیک خاصی درخوکچه گروه کنترل دیده نشد. اما درخوکچه کنترل چسندگی در قلب بصورت ماکروسکوپیک مشاهده شد. همچنین در خوکچه شماره یک نیز رگه‌های سبز رنگ در زمان کالبدگشایی دیده شد. در گروه حیواناتی که به آنها ویروس تزریق شده بود وجود تاول در کف پا و زبان؛ و ریزش مختصر اشک مشاهده گردید. در بررسی میکروسکوپیک نمونه‌های بافتی؛ در ریه یک سر از خوکچه هندی افزایش اندازه دیواره بین آلوئولی دیده شد همچنین در طبقه خاردار اپی تلیوم زبان یک سر خوکچه هندی علائم تشکیل فضای تاولی، پیکنوز هسته برخی از سلول‌ها بهمراه ادم داخل سلولی ملاحظه گردید. مشاهده فضای تاولی در طبقه خاردار اپی تلیوم کف پای دو سر خوکچه هندی از مشاهدات این روز است. سایر ارگان‌های تغییر بارزی نداشت. در یک ماه بعد از تزریق علامت ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک در خوکچه گروه کنترل دیده نشد. گروه حیواناتی که به آنها ویروس تزریق شده بود فاقد علایم بالینی و کالبدگشایی بودند. در بررسی میکروسکوپیک؛ در ریه دو سر خوکچه هندی پر خونی، افزایش اندازه دیواره بین آلوئولی و حضور سلول‌های تک هسته‌ای در اطراف برنشیول مشاهده شد، در طبقه خاردار اپی تلیوم زبان یک سر خوکچه هندی نزدیک به طبقه شاخی یک فضای تاولی دیده شد. در طبقه خاردار اپی تلیوم کف پا ادم داخل سلولی و پیکنوز هسته و تاول‌هایی که رو به ترمیم و بهبود بودند. ارگان‌های دیگرفاقد تغییر بودند. در دو ماه بعد از تزریق هیچگونه علامت ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک در خوکچه‌های گروه کنترل دیده نشد. در گروه حیواناتی که به آنها ویروس تزریق شده بود نیز علایمی مشاهده نشد. در بررسی میکروسکوپیک؛ در ریه دو سر خوکچه هندی حضور سلول‌های تک هسته‌ای در اطراف برونشیول و افزایش فضای دیواره بین آلوئولی دیده شد، در طبقه خاردار اپی تلیوم زبان تاول‌ها ترمیم شده به نظر می‌رسید بود در طبقه خاردار اپی تلیوم کف پا تاول‌های کوچکتر ترمیم یافته و تاول‌های بزرگتر در حال ترمیم و پر شدن می‌باشد درسایر ارگان‌ها تغییراتی ملاحظه نشد.



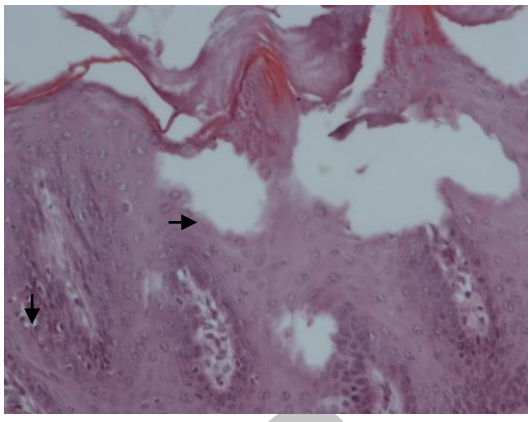
تصویر ۳ـ برش بافتی از کف پای خوکچه هندی پس از تزریق ویروس بصورت بین پوستی . فضای تاول مانند در طبقه خاردار و ادم بین سلولی و ادم داخل سلولی. (H&E ×۲۰۰)



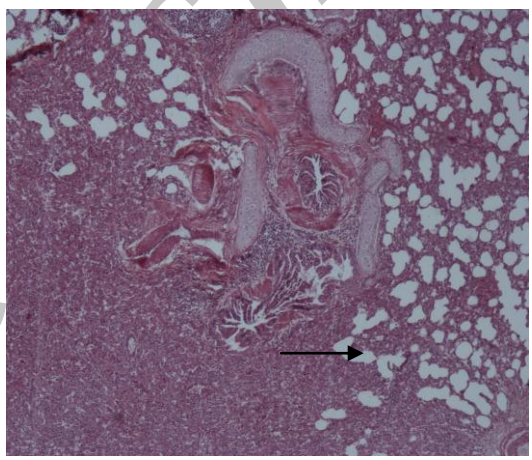
تصویر ۴ـ برش بافتی از کف پای خوکچه هندی ، حیوان شاهد (H&E،۴۰۰×)

Archive of SID

www.SID.ir



تصویر ۵ـ برش بافتی اپی تلیوم زبان خوکچه هندی پس از تزریق ویروس بصورت بین پوستی. فضاهای تاول مانند در طبقه خاردارو ادم داخل سلولی با پیکنوز هسته(H&E،×۲۰۰)



تصویر ۶ـ برش بافتی ریه خوکچه هندی پس از تزریق بین پوستی. افزایش دیواره بین آلوئولی و حضور سلول های تک هسته ای در سمت چپ تصویر و بافت سالم در سمت راست (H&E ×۱۰۰)

بحث

از آنجاییکه آزمایش کارائی واکسن تب برفکی مستلزم بکارگیری تعداد زیادی گاو می‌باشد استفاده از گاو برای آزمایش واکسن هزینه بر است، با تحقیقات گسترده‌ای که بر روی حیوانات آزمایشگاهی کوچک انجام شده مشخص گردید که با تزریق بین پوستی در کف پای خوکچه هندی این حیوان مستعد به بیماری می‌باشد از این رو محققین زیادی از این حیوان برای تحقیق در مورد بیماری تب برفکی استفاده کرده‌اند بعلاوه خوکچه هندی به تعداد زیادی قابل استفاده بوده، که این مطلب در نتایج آماری آزمایشات تاثیر بسزایی دارد، در نتیجه خوکچه هندی به عنوان مدلی مناسب در مطالعات مربوط به سیر بیماری‌زایی و مکانیسم ایمنی تب برفکی معرفی شده است(۱۵،۱۲،۱۴،۱۷،۸). با توجه به برخی مطالعات که حداکثر مدت ناقل بودن ویروس را در گاو یک سال و در گوسفند ۹ ماه، در بز ۴ ماه و در بوفالوی آفریقایی ۵ سال می‌داند و اینکه حضورمقادیر عفونت‌زای ویروس تب برفکی جدا شده از ناقلین در برخی گونه‌ها ماه‌ها و سال‌ها ادامه داشته(۱)، لذا بر همین اساس در این مطالعه ردیابی چرخش ویروس در ارگان‌های مختلف خوکچه در فواصل زمانی مشخص با روش ساندویچ الیزا و بررسی آسیب‌شناسی انجام پذیرفت که نتایج این مطالعه بیانگر آنست که ضایعات در اپی تلیوم کف پای تزریق نشده در روز دوم بعد تزریق شروع شده و در روز چهارم پس از تزریق نیز ضایعات مشاهده شدکه در هفته دوم میزان ضایعات وسیع‌تر شده و در مدت یک ماه پس از تزریق ضایعات براساس فرآیند التیام شروع به بهبودی نموده ودر نهایت در ماه دوم مشاهدات حاکی از بهبودی کامل ضایعات است، نتایج آزمایش الیزا نیزدر این ارگان حاکی از ردیابی ویروس در روز چهارم پس از تزریق بوده که در هفته دوم پس از تزریق روندی صعودی داشته و پس ازآن ویروس از اپی تلیوم کف پا خارج شده است که این نتایج بیانگر انطباق بررسی‌های هیستوپاتولوژی و آزمایش الیزا می باشد . در زبان در روز دوم بعد تزریق شکل گیری ضایعات ملاحظه شده که این روند در روز چهارم نیز ادامه داشته، دردو هفته پس از تزریق ضایعات گسترده تر شده و در ادامه در یک ماه پس از تزریق شروع به التیام کرده و در ماه دوم بعد از تزریق ضایعات بهبود یافته است، میزان ویروس در اپی تلیوم زبان نیزحاکی از این است که ویروس فقط درهفته دوم پس از تزریق ردیابی شده و در ادامه از این ارگان خارج شده است، لازم به ذکر است که علیرغم وجود ضایعات در زبان در روز دوم و چهارم پس از تزریق ویروس در این مدت ردیابی نشده است و نتایج همپوشانی دارد. نتایج سایر مطالعات نشان می‌دهد که

Archive of SID
www.SID.ir

فشار موضعی در اثر تحمل وزن در کانونی شدن ضایعات تب برفکی روی متاتارس خوکچه هندی موثر بوده، پراکندگی ضایعات با مناطق مودارنسبت عکس دارد (۷) که نتایج ما مبنی بر گرایش حضور ویروس و بروز حداکثری آثار پاتولوژیک در اپی تلیوم کف پا و زبان نیز موید همین مطلب است." گایلیوناس در سال ۱۹۶۸ مشخص نمود که جراحات پوستی میکروسکوپیک بطور عمده در گاو در روز دوم به بعد ملاحظه شده و حضور به نسبت زیاد ویروس در مخاطات موجب شکل‌گیری جراحات در گاو شده و همچنین بین تیتر بالای ویروس و ضایعات حاصله در اپی تلیال زبان، پوزه و پوست بین انگشتی در گاو آلوده ارتباط وجود دارد در ضمن شدت وتوزیع جراحات پوستی با ماهیت ویروس، فیزیولوژی میزبان و وجود مناطقی که دارای ظاهر ضربه خورده و تروماتیک بوده مرتبط است"(۷)، نتایج بررسی ما نیز نشان می‌دهد که بین حضور بالای ویروس و شدت ضایعات ارتباط مستقیم وجود دارد واینکه حضور ویروس از روز چهارم و حداکثر میزان ردیابی ویروس نیز ازهفته دوم پس از تزریق ویروس تب برفکی در اپی تلیوم کف پا دیده شده است. مطالعه دیگیرولامو در سال ۱۹۸۵ نشان داد که" با بکارگیری تکنولوژی آنتی بادی فلورسنت آغاز حضور ویروس تب برفکی فقط در سلول‌های لانگرهانس پوست خوکچه هندی بوده که در ادامه حضور ویروس در سلول‌های لانگرهانس و سلول‌های اپیدرمی می‌باشد"(۵). که بررسی‌های ما نیز موید گرایش ویروس به سلول اپیدرمی می‌باشد. "فرانسیسکو و همکاران در سال ۲۰۰۵ بیان نمودند که "وجود اجسام سلولی تحلیل رفته در طبقه خاردار با پیکنوز هسته‌ها مرتبط است ومنظره میکرو وزیکول نزدیک طبقه پایه بیانگر تاثیر ویروس تب برفکی در تشکیل وزیکول در کف پای موش است، بعلاوه جراحات یافت شده در کف پا موش‌ها با میزبان های طبیعی شباهت دارد "که ما نیزدر این بررسی نیز نشان دادیم که وزیکول در کف پا خوکچه هندی به ضایعات کف پای میزبان‌های طبیعی شباهت دارد(۶). دراین مطالعه ضایعات چشمگیری در روز دوم پس از تزریق در ریه دیده شده و در روز چهارم این ضایعات نیزروئت شد، در هفته دوم پس تزریق ضایعات بطور وسیع‌تر دیده شده که در یک ماه و همچنین دو ماه بعد هم این آثار ملاحظه شده که بیانگر حضور آثار پاتولوژیک ویروس در طول مدت تحقیق می‌باشد، و با توجه به اینکه ویروس در روز دوم پس از تزریق ردیابی شده ودر روز چهارم حضور ویروس افزایش یافته نتایج مبین این مطلب می باشد که ویروس از ماه اول به بعد ردیابی نشده واز ریه خارج شده است. سات مولر ومک ویکار با تزریق مستقیم ویروس به ریه گاو و جدا کردن آن در نواحی حلقی دریافتند ویروس از طریق ریه وارد شده سپس از راه خون و سلول‌های دیواره کیسه هوایی ویرمی بصورت موضعی آغاز می‌گردد، بافت‌های اپیدرمی به نظر می رسد که کانون توسعه جراحت نباشند نتایج مشاهدات ریز بینی بیانگر این مطلب بوده که در طحال فقط در روز دوم بعد تزریق ضایعه مشاهده شد و در سایر روزها فاقد ضایعات آسیب شناسی بوده است که نتایج حاصله از الیزا نیزحضور ویروس را در روز دوم پس از تزریق تایید می‌نماید که حاکی ا زتطابق کامل نتایج با یکدیگر دارد. فرانسیسکو و همکاران در سال ۲۰۰۵ بیان نمودند" سیر بیماری زایی ویروس در موش به این صورت بوده که ابتدا در محل تلقیح تکثیر یافته و پس ازگسترش بوسیله عقده لنفی تخلیه شده که حضور ویروس در عقده لنفی در ۲۴ ساعت بعد تلقیح مشخص شد لمفوپنی واضح و تخلیه نسبی در ارگان‌های لمفوئیدی در ۲۴ ساعت بعد تلقیح موید همین مطلب می‌باشد. لمفوپنی عمده در طی عفونت حاد در خوک آلوده به ویروس تب برفکی دیده شده است"(۶). در این مطالعه قلب فاقد ضایعات بوده در حالیکه نتایج الیزا حضور ویروس در روزچهارم و هفته دوم پس از تزریق را نشان داده است و بعد از آن از قلب خارج شده است، در کبد نیز ضایعاتی مشاهده نشد و فقط در هفته دوم پس از تزریق ویروس ردیابی شد و پس از آن از کبد خارج گردیده است،

Archive of SID

www.SID.ir

در خصوص لوزه المعده نیزعلیرغم ردیابی ویروس در روز چهارم پس از تزریق و باسیر نزولی در هفته دوم پس از تزریق بوسیله آزمایش الیزا ضایعه پاتولوژیک خاصی دیده نشد با این وجود پلات در۱۹۵۸ بیان نموده که" نکروز شدید آسینار پانکراس در برخی از خوکچه‌های هندی شبیه آنچه در هفته ۳-۴ در موش پس از تزریق ویروس تب برفکی رخ داده" که این با نتایج مشاهدات ما مغایرت دارد(۱۴)، اما فرانسیسکو و همکاران در سال ۲۰۰۵ بیان نمودند که" ویروس از لوزه‌المعده موش جدا نشده و آثار پاتولوژیک نیز مشاهده نمی‌شود. در عقده لنفی مغابنی فقط در هفته دوم پس از تزریق حضور ویروس بدون داشتن ضایعه پاتولوژیک دیده شده که بعد از آن ویروس از این عقده خارج شده است. در عقده لنفی پشت حلقی در هیچ روزی ویروس جدا نشده و ضایعه ای نیز مشاهده نگردیده است". فرانسیسکو و همکاران در سال ۲۰۰۵ نیز بیان نمودند: که" پس از تزریق ویروس تب برفکی از کبد، قلب و عقده‌های لنفاوی موش ویروس جدا نشده و آثار اسیب شناسی ندیدند"(۶) که مشابه نتایج مطالعه ما بود. در مجموع به نظر می‌رسد که در روز دوم پس از تزریق، ویروس فقط در طحال قابل ردیابی است و بعد از این مدت از این ارگان خارج شده است و در روز چهارم حضور ویروس به ترتیب در اپی تلیوم کف پا، ریه، لوزه المعده و قلب قابل ردیابی است که میزان ویروس در این مدت فقط در اپی تلیوم کف پا وریه باعث ایجاد ضایعات پاتولوژیک شده است. در هفته دوم پس از تزریق ویروس به ترتیب در اپی تلیوم کف پا، ریه، کبد، عقده لنفی مغابنی، اپی تلیوم زبان، قلب، لوزه المعده ردیابی شده، در بین ارگان‌هایی که حضور ویروس از روز چهارم پس از تزریق تداوم داشته میزان ویروس در اپی تلیوم کف پا و بافت ریه افزا یش داشته و در ضمن میزان ویروس درقلب بدون تغییربوده اما ردیابی ویروس در لوزه‌المعده سیرنزولی را طی کرده است. شایان ذکر است که نتایج بررسی حاضر بیانگر آن است که حضور ویروس فقط در اپی تلیوم کف پا، ریه و اپی تلیوم زبان آثار پاتولوژیک داشته است.

تشکر و سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات خانم طالبلو و آقای محمد مهدی قراگوزلویان پرسنل بخش آسیب‌شناسی که در تهیه و رنگ‌آمیزی مقاطع و آقایان فرامرز جیرانی و مسعود ستوده پرسنل بخش تب برفکی که در آزمایشات ویروس‌شناسی بنده را یاری نمودند تشکر و تقدیر می‌گردد.

REFERENCES

1-Alexanderson,S,. Zhang, Z. Donaldson,A.I. and Garland,A.J.M.(2003). The Pathogenesis and Diagnosis of Foot-and-Mouth disease. J. Comp. Path. 2003: vol. 129: 1-36.

2-Alexandersen, S.,Zhang, Z., Reid, S.M., Hutchings,G.H.and Donaldson,A.I. (2002c): Quantities of infectious virus and viral RNA recovered from sheep and cattle experimentally infected with foot-and-mouth disease virus OUK 2001. Journal of General Virology, 83:1915-1923.

3- Barnett , P.V. and Cox, S.J. (1999): The role of small ruminants in the epidemiology and transmission of foot-and-mouth disease. Veterinary Journal, 158:6-13.

4- Callens, M., De Clercq, K., Gruia, M. and Danes, M.(1998): Detection of foot-and-mouth disease by reverse transcriptase polymerase chain reaction and virus isolation in contact sheep without clinical signs of foot-and –mouth disease. Veterinary Quartery, 20(Supple. 2): 37-40.

5-Digirolam, W., Salas, Laguensrp. (1985): Role of Langerhanse cells in the infection of the guinea-pig epidermis with foot-and-mouth disease virus. Arch Virol 83:331-336.

6-Francisco J. Salguero, Miguel A. Sánchez-Martín, Fayna Díaz-San Segndo, Ana de Avila, Noemí Sevilla (2003): Foot-and-mouth disease virus (FMDV) causes an acute disease that can be lethal for adult laboratory mice. virology 332:384-396.

www.SID.ir

7-Gailiunas, P.(1968):Microscopic Skin Lesion in Cattle With Foot-and-Mouth Disease.Archive für die gesamte virusforschung 25,188-200.
8-Henderson,W. M.(1949). The quantitative study of foot- and- mouth disease virus. Agric. Res. Counc. Spec. Rpt. Series No. 8. London: H.M.S.O.
9-Hughes, G. J., Mioulet, V., Kitching, R. p., Woolhouse,M. E., Alexanderson,A. I.(2002): Foot-and-mouth disease virus infection of sheep:implications for diagnosis and control. Veterinary Record, 150: 724-727.
10- Kitching, R. P. (1998): A recent history of foot-and-mouth disease. Journal of Comparative Pathology, 118: 89-108.
11-Kitching, R. P., Knowles, N. J.,Samuel, A. R. and Donaldson, A. I. (1989): Development of foot-and-mouth disease virus strain characterisiation-a review .Tropical Animal Health and Production,21:153-166.
12-Mackowiak, C., Fontaine,J., Terre,J., Stellmann, C.,Roumiantzeff,M.&Petermann,H.G.(1966):Co ntrôle quantitative du vaccine antiphteux. Etude de la loi dose effect et corrélation entre les doses vaccinantes 50% chez les cobayes et les bovidés.Bull.Off.int.Epiz.56:131-171.
13-Mahravani,H., Keyvanfar, H., Izadi, H., Salehizadeh, M., Taghizadeh, M., Sotudeh, M. and Ghreashi, S.A.(2007):Genetic and antigenetic analysis of O and A FMD viruses isolated in iran,Archives of Razi institute,62:63-38.
14-Platt, H. (1958): Observation on the pathology of experimental foot-and-mouth disease in the adult guinea pig. J .Path.Bact.76:119-131.
15-Skinner, H. H. & Knight, E, H. (1964): Enviromental factors influencing the responce of guinea pigs to modified strains of foot-and-mouth disease virus. Bull.Off.int.Epiz.61:1523-1543.
16-Sutmoller and Gaggero.(1965):Foot-and-mouth disease carriers.veterinary Record,77:968-969.
17-Trepstra,C., Frenkel, S.Straver,P.J., Bartelling, S.J. &Van Bekkum, J.G.(1977):Comparison Of laboratory techniques for the evalution of the antigenic potency of foot-and-mouth disease virus cultures and vaccines. Int, Symp. FMD, Lyons, 1976. Develop. biol. Standard. 35:333-342 (Basel:S.Karger,1977).
18-Van Bekkum ,J.G., Frenkel, H.S., Frederisk, H.H.J.and Frenkel,S.(1959a). Observation on the carrier state of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus. Bulletin de lٰ'Office international des Epizooties, 51,917-922.
19- Van Bekkum, J.G., Frenkel, H.S., Frederisk, H.H.J. and Frenkel, S.(1959b): Observation on the carrier state of cattle exposed to foot-and-mouth disease virus. Tijdschriet voor Diergeneeskunde,84:1159-1164.
20-Waldmann,O.&Pape,J.(1920):Die KÜnstliche Übertragung der Maulund Klauenseuche auf das Meerschweinchen. Berl. Tierärztl. Wschr. 36: 519.

Archive of SID

www.SID.ir