

داء الكلب RABIES المعالجات للحد من الانتشار

خالد عبد الله حسين

فرع الأحياء المجهرية ، كلية الطب البيطري ، جامعة الموصل

تاريخ أستلام المقالة 1998/4/22 تاريخ قبول المقالة للنشر 1998/8/26

الخلاصة

بعد التلقيح أو التحصين ضد الأمراض المعدية خاصة الأمراض المعدية الفايروسية الطريقة الرئيسة للوقاية ولكن ليس استئصال المرض (1-4). ويبدو أن التغير في بيئة الأحياء المجهرية وكذلك تغيراتها antigenic variation يؤكد أن عدد من الأحياء المجهرية والتعرض للإصابة بها ملازما للامدى الحياة (5).

انه من المستحيل أن نتخلص من فايروس داء الكلب من عالم الحيوان وكذلك موزايا له أن تمنع المرض من الانتقال من حيوان إلى حيوان وبالتالي عن طريق الصدفة إلى الإنسان. وما يمكن تحقيقه الآن بسهولة هو منع الإصابة في الإنسان إذا تعرضوا للإصابة بالفايروس حيث ان تطور لقاحات جديدة Human diploid cell vaccine والذي يعتبر عالي المستضدية immunogenic وله تأثيرات جانبية قليلة ويعتبر تقدم ملحوظ في الوقاية لمرض معدي قاتل (داء الكلب) (2-4 ، 6 ، 7).

ان استخدام الأجسام المناعية أحادية النسيلة للكشف عن عتر فايروس داء الكلب virus strain سهل الدراسات الوبائية والخاصة بالتلقيح والحماية وحتى اكتشاف هذه الأجسام أحادية النسيلة فان فايروسات داء الكلب المعزولة من حيوانات مختلفة animal species كانت تعتبر من الناحية الانتجينية (المستضدية) متقاربة antigenically closely related (5 ، 8) ولكن الأجسام المناعية أحادية النسيلة قدمت الأثبات الوافي لوجود اختلافات بين عتر فايروس داء الكلب سواء الفايروس الثابت fixed أم فايروس الشارع street لقاح باستور المطبوع في الأرناب على سبيل المثال كان يعتقد أنه يمتلك تفاعل

تصالبي كاف مع فايروسات الشارع لحماية الأفراد في مناطق مختلفة من العالم ولكن ثبت ان هذه ليست الحقيقة حيث سجل فشل في اللقاح لأمرار عدة حتى عند الاستخدام الفوري للعلاج للأشخاص الذين تعرضوا للإصابة ولاتبات هذه الحقيقة antigenic variation تم توليد مغايرات للفايروس (variant) في المختبر تحت ما يسمى بالضغط المناعي immune pressure وقدم كدليل للتغيرات في الفايروس إضافة إلى التغيرات المستضدية المثبتة على فايروس داء الكلب باستخدام الأجسام المناعية أحادية النسيلة. وأصبح الآن معروف ان الفايروسات المعزولة من الخناش ذو صفات مميزة مستضديا antigenically distinct عن الفايروسات المعزولة من حيوانات أخرى مثلًا فايروسات الحيوانات البرية مثل Raccoon يختلف عن فايروسات الثعالب. هذه المعلومات سهلت عملية تتبع المرض من الناحية الوبائية epidemiological tracing وكذلك مهمة في عملية تحضير اللقاح. وأوضحت الدراسات ان الأحماض الأمينية amino acids تتغير في بروتين الفايروس الخارجي أي الكلايكوبروتين G والذي يحدث بدوره تغييرات في القابلية الأنتجينية antigenicity وكذلك في فوعة الفايروس virulence هذه التغيرات والتحويلات antigenic drift هي المسؤولة عن الفشل في اللقاح ويمكن الآن تقريب الفايروس اللقاحي عن فايروس الشارع (5 ، 8 ، 9).

السيطرة على داء الكلب :

لا بد من الإشارة إلى الطرق المختلفة المتبعة للسيطرة على داء الكلب :

1. التلقيح الشامل للكلاب والقطط.
2. السيطرة على الحيوانات المضيضة (حملات الصيد والإبادة).
1. باستعمال الغاز 2. القتل 3. التسميم.

التلقيح عن طريق الفم oral vaccination :

تعد الكلاب السائبة والثعالب والذئاب هي مصدر رئيس للمرض ولأجل السيطرة على انتشار المرض والقضاء على مصدر المضيف للمرض reservoir أما بالطرق أعلاه لكن في الفترة الأخيرة جرت محاولات كثيرة لتحصين هذه الحيوانات باستخدام اللقاح الحي المعطى عن طريق الفم وذلك باستخدام رؤوس الدجاج كعامل ناقل للقاح (أي عن طريق الطعام

الكلب ومنع انتشار المرض والقضاء عليه جرت في سويسرا وبقاريا (9-11) وذلك باستخدام رؤوس الدجاج المحقونة بالفايروس المضعف modified live virus vaccine (MLV) (9 ، 10) كمحاولة لتلقيح الحيوانات المصابة أما من الناحية البايولوجية فإنه المأخذ الوحيد أو التخوف لهذه المحاولة فهي مسألة القوارض التي يمكن أن تأخذ الفايروس اللقاحي من الحيوانات الميتة وتصبح كمستودع للمرض.

التلقيح عن طريق الفم باستخدام لقاح الهندسة الوراثية :

للتخلص من المشكلة وهي مسألة وجود فايروس حي في الطبيعة لجاء العلماء لاستخدام لقاح الهندسة الوراثية حيث يبقى المبدأ كما هو ولكن باستخدام اللقاح الحديث recombinant vaccinia vaccine والذي هو في طور التجربة والتطبيق ويعتبر لقاح الهندسة الوراثية هذا (11) ذو فعالية عالية وجيدة لكونه يعطي مناعة عالية في الحيوانات البرية وكذلك نتخلص من المشاكل أعلاه عند استخدام اللقاح الحي MLV المضعف وهي :

- 1- مشكلة القوارض لأن لقاح الهندسة الوراثية لداء الكلب غير حي.
- 2- نتخلص من وجود فايروسات حية في اللقاح.

ولأن عملية السيطرة على داء الكلب في دول العالم الثالث لم تحقق الأهداف المرجوة منها في تقليل نسبة الإصابة بالمرض ، عليه التلقيح الشامل للكلاب والقضاء على الكلاب السائبة إضافة إلى امكانية استخدام التلقيح عن طريق الفم بالنسبة للكلاب السائبة عليه فإن الكلاب السائبة الحساسة للإصابة وهي الخزير بالنسبة للمرض سوف تأخذ اللقاح.

لقاح الهندسة الوراثية :

ان اختيار فايروس الجدري (الفاكسينية Vaccinia) لتحضير لقاح الهندسة الوراثية واستخدامه كناقل بليولوجي Eukaryotic cloning vector للأسباب التالية :

- 1- القابلية على النمو في المختبر.
- 2- الثبات stability عند تحضير اللقاح بشكل جاف freeze-dried preparation.

3- السهولة في التلقيح.

4- الفايروس يتحمل وجود جين واحد أو أكثر من جين في الحامض النووي لأنه يحتوي على 187000 base pairs وله القابلية لأن يكون من 200-150 gene products بروتين وان غرز الجينات في هذا الفايروس خاصة في المنطقة Thymidine kinase لا يؤثر على حيوية الفايروس وقابليته على الاستنساخ والتكاثر (13).

وان من أهم مواصفات اللقاح الناجح في هذه الحالة هي :

1- ان التراكيب البروتينية الانتجينية هي تراكيب أصلية أي حقيقية authenticity أي تحمل كافة المستضدات الخاصة بالفايروس المعني أي الايتوبس Epitopes وان موقع هذه الانتجينات وتركيبها localization and conformation هي نفسها الخاصة بالفايروس المعني.

2- يستعمل لغرض اعادة التلقيح revaccination.

3- يحمي الحيوان ضد المرض.

4- أمين safe.

أما كيفية غرز أو إدخال التراكيب الأحماض النووية (الجينات) في جينوم فايروس الفاكسينية (13) فتتلخص فيما يلي (الشكل 1) :

1- عزل الجين أو الجينات الغريبة foreign والمسؤولة عن تكوين الكلايكوبروتين G الخاص بفايروس داء الكلب (surface spike glycoprotein) وفي هذه الحالة الجينات المسؤولة عن إنتاج هذه الكلايكوبروتين لفايروس داء الكلب الخاصة والمسؤولة عن الحماية ضد مرض داء الكلب. ومن تكلون أي cloned في ناقل vehicle مثل البلازميد pBR322.

2- يوضع جزء من جينوم فايروس الفاكسينية 100-1000 base pairs of vaccinia sequences في البلازميد أعلاه الذي بدوره يحيط flank بالجين الغريب (G) ويحتوي على البروموتر promoter الخاص بالفاكسينية.

هذا بدوره سوف يوجه الجين الغريب insert إلى الترتيب المشابه homologous sequence له في جينوم الفاكسينية.

3- يضاف هذا البلازميد recombinant plasmid الذي يحتوي على الجين المغروز chimeric insert (الوهمي) إلى الوسط الزراعي النسيجي وبطريقة قياسية معروفة تصاب الخلية به Transfection وذلك باستخدام طريقة الكالسيوم (calcium orthophosphate precipitate preparation).

4- تصاب الخلية في نفس الوقت concomitantly بفيروس الفاكسينية Viable infectious vaccinia virus.

5- يحدث الاتحاد (recombination) داخل الخلية بين الجينات المتماثلة homologous sequences ومن ثم يتكاثر الفيروس replication الهجين الـ recombinant ويتجمع وينضج ويغادر الخلية وهو فيروس الفاكسينية الحاوي على الجينات الخاصة Novel recombinant vaccinia virus (الكلايكوبروتين G الخاص بداء الكلب).

6- يستعمل الناتج وذلك لمعرفة مدى فعاليته لإنتاج الأجسام المناعية المعادلة لفيروس داء الكلب وكذلك لدراسات الحماية protection حيث تم حقن الفئران به وتم يكشف عن وجود الأجسام المناعية المعادلة لفيروس داء الكلب واختباره أيضا في تجارب التحدي challenge أما البروتين المنتج فيجري عليه العديد من الاختبارات السيرولوجية والمناعية منها ترسيب البروتين immunoprecipitation بالأجسام المناعية واختبار الويسترن بلوت Western blot وبعد ذلك تم استخدام هذا اللقاح لتحصين الحيوانات البرية والكلاب عن طريق الفم.

أما اللقاح المستخدم في الوقت الحاضر لتلقيح حيوان الراكون raccoon الحيوان البري فهو infectious raccoon pox virus والمحضر من العترة strain ERA لداء الكلب (11) حيث أعطى مستوى عالي من الأجسام المناعية المعادلة لفيروس داء الكلب وبعد إجراء التحدي باستخدام فيروس داء الكلب الخاص بالراكون lethal raccoon rabies street virus فأبدى حماية ضد الإصابة بداء الكلب.

وبذلك يمكن استخدام فيروس الجدري الخاص بالحيوانات لتحصينها ضد الإصابة بداء الكلب وان هذه التجربة مطبقة الآن للسيطرة على داء الكلب في الحيوانات البرية في ألمانيا ، الاتحاد السوفيتي وسويسرا (9-12 ، 14) .

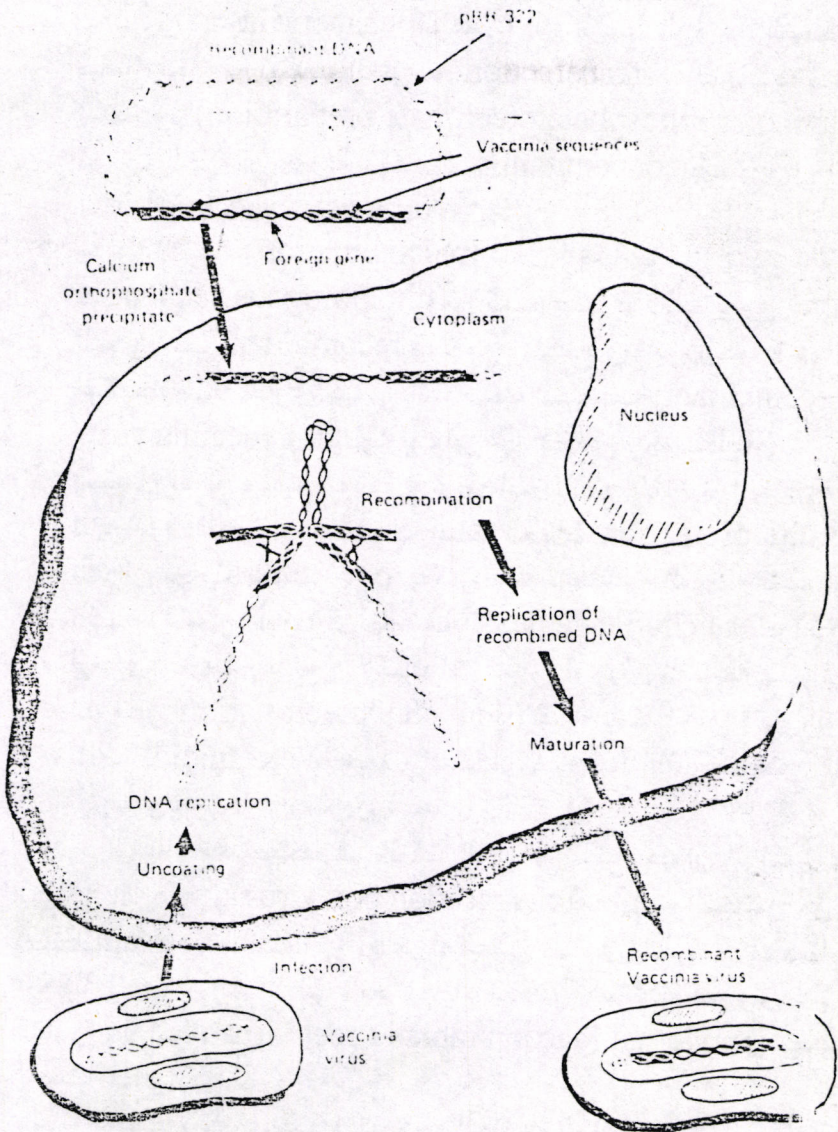


Fig. 7. General protocol for the insertion of foreign genes into vaccinia virus (see text for details).

الشكل (1) : طريقة غرز الجينات في جينوم فايروس الفاسينية.

REFERENCES

1. Felety, R., (1982). Rabies prevention : The latest guidelines. PA Drug Update, October : 1-9.
2. Anderson, L.J.; Nicholson, K.G.; Tauxe, R.V.; Winkler, W.G.,(1984). Human rabies in the United States, 1960-1979: Epidemiology, Diagnosis and prevention. *Annals of Internal Medicine*,. 100 : 728-735.
3. Gaudry, D., (1983). Rabies vaccines : The Merieux experience. *Veterinary Medicine, Small Animal Clinician*: 317-324.
4. Anderson, L.J.; Baer, G.M.; Smith, J.S.; Winkler, W.G.; Holman, R.C., (1981). Rapid antibody response to human diploid rabies vaccine. *Am. J. Epidemiol.* 113 : 270-275.
5. Winkler, W.G. Rabies concepts for medical professionals. Merieux Institute. Inc. P.O. Box 52-3980, Miami, Florida 33152-3980. Telex 80387.
6. Helmick, C.G., (1983). The epidemiology of human rabies postexposure prophylaxis, 1980-1981. *JAMA*, 250 : 1990-1998.
7. Collins, T.R.; Burrige, M.J., (1984). Rabies prophylaxis. *American Family physician.* 29 : 295-300.
8. Smith, J.S.; Summer, J.W.; Roumilla, L.F.; Baer, G.M.; Winkler, W.G., (1984). Antigenic characteristics of isolates associated with a new epizootic of raccoon rabies in the United States. *J. Infect. Dis.* 148 : 286-293.
9. Kovaliov, M.A.; Shashenko, A.S.; Davidenko, V.P., (1983). Oral rabies vaccination of wild carnivores : presented at XXII World Veterinary Congress, Perth, Australia. (p : 226 of abstract booklet).
10. Baer, G.M.; Abelseth, M.K.; Debbie, J.G., (1971). Oral Vaccination of foxes against rabies. *Amer. J.* 93 : 487-490.

11. Esposito, J.J.; Knight, J.C.; Shaddock, J.H.; Novembre, F.J.; Baer, G.M., (1988). Successful oral rabies vaccination of raccoons with raccoon
12. Burrige, M.J., (1984). Wildlife rabies in the United State. Avian/Exotic practice. 1 : 17-22.
13. Mackett, M. and Smith, G.L., (1986). Review article : Vaccinia virus expression vector. J. Gen. Virol. 67 : 2067-2082.
14. Steck, F.; Wandeler, A., (1980). The epidemiology of fox rabies in Europe. Epidemiol. Rev. 2 : 71-96.

RABIES

ORAL IMMUNIZATION AGAINST RABIES

Khalid A. Hussain

Dept. of Microbiology, College of Vet. Med., Uni. of Mosul.

SUMMARY

Rabies is a highly fatal infection of the central nervous system which occur in all warm-blooded animals and transmitted by the bites of affected animals. The major manifestations of the disease include motor irritation and clinical signs of mania and an attack complex and ascending paralysis. Rabies and rabies related viruses belong to a group of more than 75 viruses called RHABDOVIRUSES (Rhabdo=rod) because of their bullet-shaped morphology. The virus is fragile, easily inactivated by disinfectants, and does not exist free in the environment. Instead, in the course of its infection in reservoir host species, it is shed into the saliva and is transmitted by bite. After entry into a new host in the bite site, rabies virus multiplies in muscle cells and aggregates around the proprioceptor nerve endings of their acetylcholine receptors and then spreads through neural pathways, all without stimulating an effective host immune response. Transmission depends on simultaneous delivery of virus to the salivary glands and the limbic system of the brain. Infection of the limbic system of the brain is the cause of the fury which drives the animal to bite. Infection of the salivary glands is the source of the large amounts of virus in saliva. This unique pathogenetic patterns leads to entrenchment of the virus in its reservoir host populations and to continuing risk of exposure of man. Dog rabies has been controlled globally by the use of potent

vaccines and the application of effective urban control programs (poisoning, trapping, shooting). The problem that then remained has been wildlife rabies, primarily in wolves, foxes, skunks, raccoons as well as stray dogs. Therefore, a new approach to wildlife rabies control has been made which involves oral vaccination. Several successful trials were attempted in Switzerland, West Germany and the U.S.S.R. Rabies control efforts in the developing countries did little to really reduce the incidence of the disease. Therefore, mass vaccination of dogs and the elimination of strays coupled with the oral vaccination (recombinant vaccinia vaccine) of dogs so that the population of susceptible stray dogs can be immunized.