ویروس مولد بیماری‌هاری، مخازن‌ویروس
تشخیص آزمایشگاهی

مجله علمی نظام پزشکی
سال دوم، شماره ۱، صفحه ۵۰، ۱۳۵۱

دکتر یونس‌کریمی - دکتر میرهوشنگ مجد تیموری - دکترعزیزالله ثابتی *

مقدمه : باوجود اینکه تاریخ بیماری هاری بسیارکهن و مربوط بعهد ارسطو و شاگردانش میباشدکه هاری سگ را می‌شناختند معذلك مباحث مختلف این بیماری درطی قرون متمادی در پرده ابهام و تـاریکی بوده و در اواخر قرن هیجده زنیك تجربیات ذیقیمتی‌را درباره هاری‌حیوانات‌انجام‌داده‌وبسال۱۸۰۴، توانسته بزاق حیوان هاری را در زخم حیوان سالمی وارد وبدین‌ترتیب هاری تجربی ایجاد نماید. دراین راه گالیته گامهای بلندتری برداشته و هم‌اوست‌که توانسته بیماری هاری را بخرگوش منتقل نموده و بسال ۱۸۷۹، انتقال هاری را ازطریق آب دهان اعلام کند. کشف طریقه انتشار ویروس هاری نیز ازآن این دانشمند است زیرا تزریق ویروس درعصب سیاتیك خرگوش ومبتلانمودن آن به‌هاری ازکارهای اوست .

پس ازگذشت قریب یك قرن، در دوران طلائی پاستور در پرتو تحقیقات پرشکوه این دانشمند پرده‌های ابهام یکی‌پس‌ازدیگری کنار زده شد ودر سال ۱۸۸۵، واکسن ضد هاری توسط پاستور کشف و بجهانیان عرضه گردیدکه امروزه نیز باتغییراتی‌که در تهیه‌آن داده شده برای مصون نمودن اشخاص‌وحیوانات دربرابر بیماری هاری و پیش‌گیری ازبروز بیماری درنزدکسانیکه مورد گزش حیوانات هار واقع شده و ویروس بیماری وارد بدن آنها گردیده‌است بکار میرود.

کشف نگری دانشمند ایتالیائی بسال ۱۹۰۳، راه تازه‌ای برای تشخیص هاری گشود و ازآن پس وجود انکلوزیونهائی‌که به‌اسم کاشف‌آن بنام جسم‌نگری نامیده شده ودر سیتوپلاسم نرونها دیده میشود، دلیل‌قاطعی‌برتشخیص‌مثبت‌هاری بحساب می‌آید. بالاخره در طی سالهـای اخیر روش‌های دیگری برای ظاهر ساختن و رؤیت نمودن اجسام‌نگری‌که عبارت از آنتی‌ژن هاری است بکار بسته شده ازقبیل ایمونوفلورسانس، ایمونوپراکسیداز وبموازات این روش‌ها آزمایشات سرولوژیکی نوینی از قبیل سرونوترا- لیزاسیون، هماگلوتیناسیون پاسیو، ایمونوفلورسانس غیرمستقیم، فیکساسیون‌کمپلمان وژل دیفوزیون برای پی‌بردن به‌وجودآنتی کور و آنتی‌ژن هاری مورد استفاده واقع شده است که مختصراً درباره آنها صحبت خواهیم‌کرد.

شکل و صفات ویروس : از زمانی که میکروسکپ الکترونیك بخدمت محققین‌درآمده، قسمتی‌ازمجهولات عمده‌ای‌که درشناختن فرم وشکل وساختمان ظاهری ویروس‌ها وجود داشت ازبین رفته است. بویژه‌که در همین ایام کشت و تکثیر سلول درآزمایشگاه ممکن‌گردیده واین خود کمك شایان و تسهیلات فراوانی برای مطالعه در احوال ویروس‌ها فراهم آورد . ویروس هاری نیز در زمره ویروس‌هائیست‌که وسایل و اسباب کشت و رشد و نمو آن درآزمایشگاه فراهم‌گردیده‌است وتوانسته‌اند مراحل‌مختلف رشد و تکامل آنرا مورد دقت و بررسی قرار دهند ، اما بازهم نکات بسیاری‌هست‌که‌همچنان‌مبهم‌وناشناخته‌مانده‌است. ازلحاظ‌شکل(۱) ویروس هاری شبیه گلوله تفنگ است‌که یك سرآن‌گرد وانتهای دیگر بریده‌است، قطرآن درحدود ۷۵ الی۸۰ میلی‌مو وطول‌آن بطورمتوسط۱۸۰میلی‌مواست. ویروس‌هاری‌دارای‌هسته‌ایست بقطر تقریباً ۴۰ میلی‌موکه حاوی جدار متراکمی‌است، ولی از تراکم

* تهران - انستیتوپاستور ایران .

[Downloaded from jmciri.ir on 2025-07-04]

آن درقسمتی که درمقابل انتهای مسطح ویروس است کاسته میشود. این جدار ازبرجستگی‌های سطحی بطول ۶۰ تا ۷۰ آنگستروم که دارای انتهای محدبی میباشند پوشیده شده است. درانتهای مسطح ویروس شکافی شبیه ۷ که زاویه آن بخارج است دیده میشود. سطح ویروس ازشش ضلعی‌هائی که بشکل لانه زنبور قرار گرفته‌اند پوشیده میباشد.

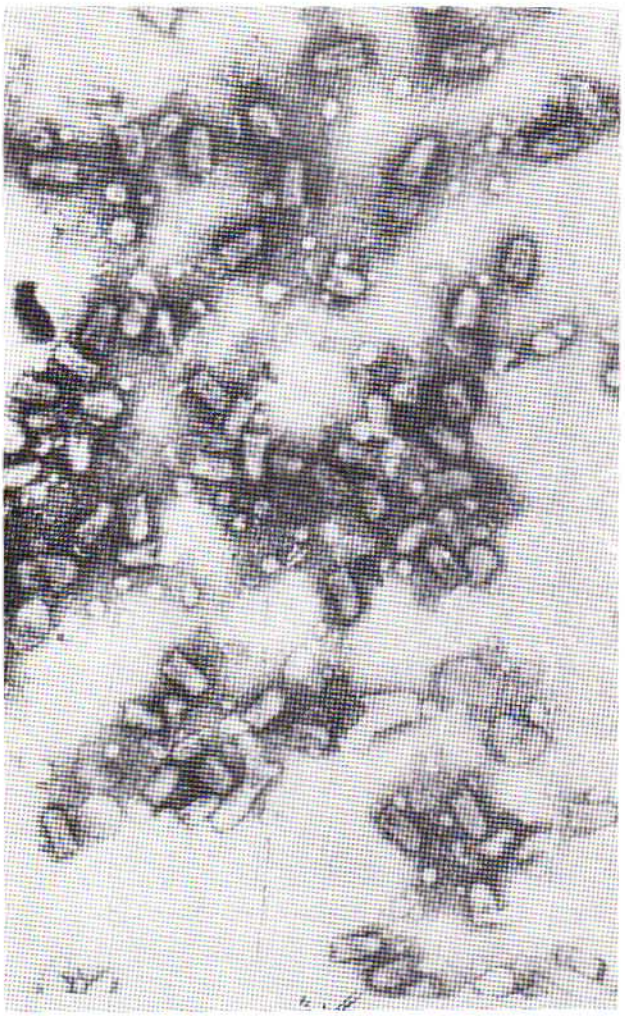
درباره ساختمان شیمیائی ویروس هاری اطلاعات دقیق و جامعی در دست نیست. درانستیتو Wistar، موفق بجدا کردن RNA (اسیدریبونوکلئیك) خالص ازویروس هاری شده ووزن مولکولی آنرا ۱۰۶ × ۶ ذکر کرده‌اند. این RNA فقط دارای یك زنجیر است. ویروس هاری باحلالها یا امولسیفیانهای مواد چربی از بین می‌رود واین نشان می‌دهدکه چربی درساختمان آن وجود دارد. اشکال ۱ تا ۴ نمایاننده مطالب فوق میباشند.

باوجود تحقیقاتی که درباره ویروس هاری شده ودراینجا احتمالا بدانها اشاره شده، معذالك توافق قطعی دراینکه این ویروس درچه طبقه‌ای قرار گیرد حاصل نشده برخی آنرا جزء آدبو ویروس‌ها وعده‌ای در ردیف میکزو ویروس‌ها قرار میدهند.

کشت ویروس: امروزه ویروس هاری را در روی کشت سلولهای انساج مختلف از جمله نسج کلیه هامستر کشت میدهند واین خود وسیله‌ایست که بکمك آن توانسته‌اند مسائل مختلفی را موردمطالعه قرار دهند وپدیده‌های مختلفی را توجیه نمایند. دراینجا اشاره بمسائلی میکنیم که In Vitro درمحیطهای کشت تحقیق شده‌است.

اگر بمحیط مواد شیمیائی که مانع ساخته شدن DNA (اسیددزکسی ریبونوکلئیك) میشوند ازقبیل Actinomycine D و Mitomycine C وFluorodesoxyuridine اضافه کنیم بازهم ویروس هاری برشد وتکثیر خود ادامه میدهد واین نشان میدهد که ویروس هاری حاوی RNA است.

همچنین بکمك کشت سلولی مطالعات فراوانی درباره ماده‌ایکه به انترفرون معروف گشته‌است نموده‌اند. درانستیتوی Wistar فیلادلفیا نشان داده‌اند، که کشت ویروس درسلول کلیه هامستر بحد اعلای خود میرسد وسپس بسرعت پائین میآید و این عمل دراثر ماده‌ایست که درمحیط کشت ایجادمیشود ومانع رشد وتکثیر ویروس میگردد. اگرچه این ماده میتواند مانع رشد ویروس (In Vitro) گردد ولی براساس تجربیاتی که بطور In Vivo انجام شده، بنظر میرسد که پیدایش آن درنزد حیوان مبتلا بهاری دیررس بوده ونمی‌تواند نقش پیش گیری را داشته باشد. طبق تجربیاتی که درانستیتوی Wistar فیلادلفیا صورت گرفته انترفرون حاصله از تزریق داخل مغزی ویروس بهامستر با عواملی ازقبیل سن،



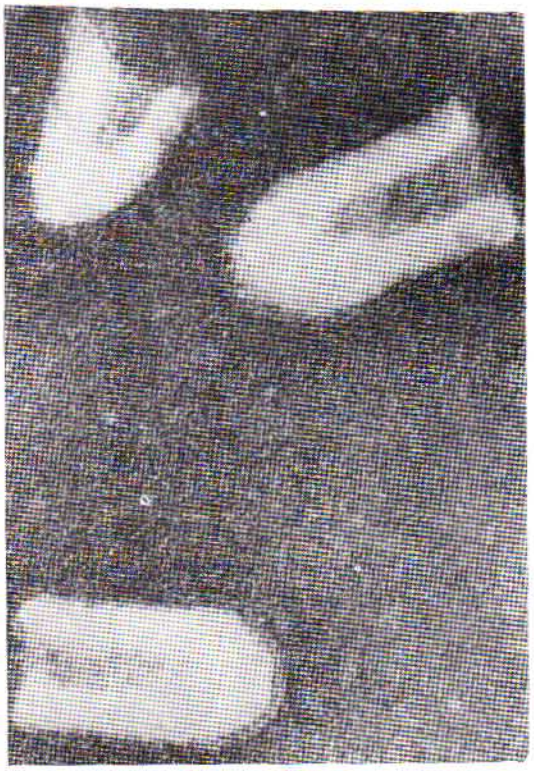
شکل ۱- ویروس هاری بزرگ نمائی × ۳۷۸۰۰.

نمونه ویروس ومقدار آن بستگی دارد. ویروس‌هائی که دراثر پاساژهای متعدد درداخل سلسله اعصاب خرگوش، خواص ودوران کمون ثابتی پیدا کرده‌اند، ایجاد انترفرون نمی کنند. همچنین درمغز هامستر چه درمرحله تحریکی وچه در مرحله فلجی که در اثر تزریق ویروس کوچه (ویروسی که بطور طبیعی درحیوانات ایجاد بیماری میکندودوره کمون آن بیشتر است) ایجادشده باشد، انترفرون ندیده‌اند (۱). بنظرمیرسد که انترفرون درجریان عفونت هاری پیدا میشود ولی مربوط بمکانیسم دفاع مؤثر حیوان علیه ویروس نیست. تزریق انترفرون بهموش (سوری) درزمانهای مختلف آلودگی تجربی، آنرا دربرابر ویروس هاری محافظت نمی کند (۲).

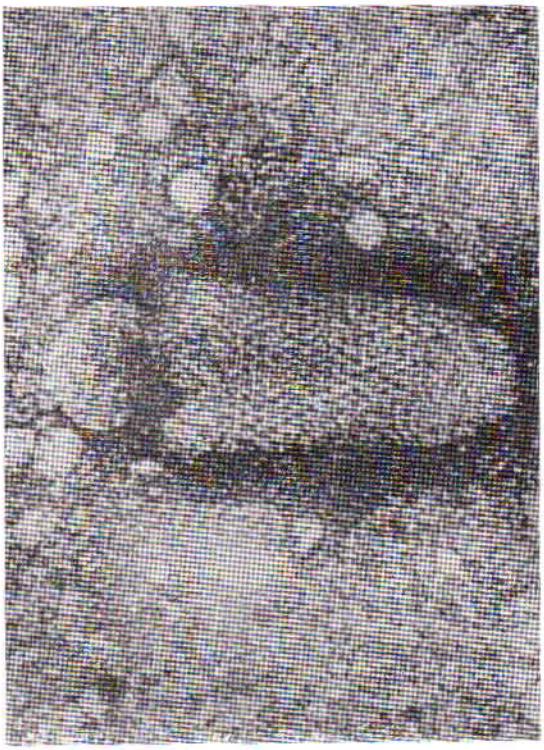
نکته دیگری که بکمك کشت ویروس در روی کشت سلول مشاهده شده وقابل ذکر است همزیستی ویروس وسلول میباشد (۲). وچه بساکه همین پدیده علت و سبب دوره‌های طولانی کمون بیماری باشد. برای این دوره‌های طولانی کمون مواردی ذکر شده

[Downloaded from jmciri.ir on 2025-07-04]

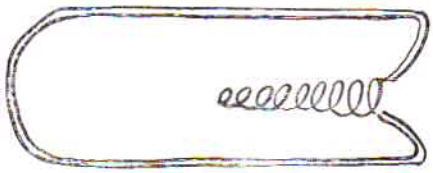
(۳ و۴) که اهم آنها بقرار زیر میباشد :
۶۰ روز ، ۱۴۸ روز ، ۳۶۸ روز ، ۴ سال وسه ماه وبالاخره ۱۹ سال وشش ماه .



شکل ۲- ویروس هاری- بزرگ نمائی × ۱۲۳۸۰۰



شکل ۳ - ویروس هاری ومنظره لانه زنبوری سطح آن
بزرگ نمائی × ۴۰۰۰۰۰



شکل ۴ - نمایش جدار و کانالیکول مرکزی ویروس که بشکل هلیکوئید است.

خاصیت آنتی ژنیکی ویروس هاری : ویروس‌هاری قدرت آنتی ژنیکی خوبی دارد وبعبارت دیگر ویروس هاری بعنوان آنتی‌ژن سبب پیدایش آنتی کور بمعیار قابل ملاحظه‌ای میگردد . بابکار بستن طریقه‌ها و روش‌های مختلف، توانسته‌اند پی بوجود دستجات مختلف آنتی کور ببرند وامروزه پنج نوع از آن را میشناسند که عبارتند از آنتی کورهای خنثی کننده ، ثابت کننده کمپلمان، راسب شونده، جلو گیری کننده درهماگلوتیناسیون و آنتی کور سیتولیتیك، ولی نقش هیچیك ازاین آنتی کورها دربرقراری مصونیت مشخص نیست. بطوریکه برخی از بیماران هار گزیده که تحت درمان پیش‌گیری بوده‌اند دارای آنتی کور بحداعلی بوده وچندین هفته پس از سنجش عیار آنتی کور از بیماری هاری فوت نموده‌اند (۵) . وبرخی دیگر از بیماران هار گزیده درپایان دوره درمان پیش گیری از لحاظ آنتی کور ضد هاری فقیر بوده، ولی مبتلا به‌هاری نشده وجان بسلامت برده‌اند .

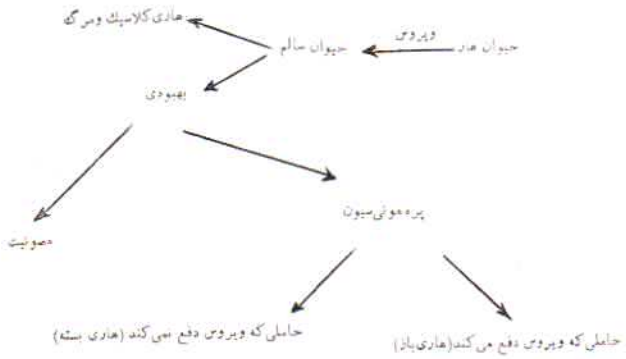
سر نوشت آنتی‌ژن : سرنوشت ویروسی که بعنوان آنتی‌ژن وارد ارگانیسم حیوانی میشود در تمام‌موارد یکسان نبوده، گاهی نامشخص است . مشاهداتی که قبلاً بدانها اشاره شد از قبیل طولانی بودن دوره کمون ، ووجود آنتی کور ضد هاری درنزد حیوانات بظاهر سالم نیز مؤید این مسئله هستند. همچنین در سالهای اخیر شرح حال بیمارانی که دوره بیماری آنها فوق‌العاده طولانی بوده ومنتشر شده از آنجمله است شرح حال بیماری که ۶۴ روز پس از بروز علائم زنده بوده (۶) وعیار آنتی کور باروش‌های مختلف سنجش بقرار زیر بوده است :

آنتی کور ثابت کننده کمپلمان	فلورسانس غیر مستقیم	آنتی کور خنثی کننده	تاریخ جدا کردن سرم
< ۱ : ۴	۲ +	< ۱:۵	۸/۸/۶۸
۱ : ۴	۴ +	> ۱:۵۰۰۰	۳۰/۹/۶۸
۱ : ۶۴	انجام نشده	۱:۲۴۰۰	۱۰/۱۰/۶۸
۱ : ۱۲۸	انجام نشده	۱:۱۷۵۰	۱۱/۱۰/۶۸

مورد دیگری نیز از دوران بیماری هاری بمدت ۱۳۳ روز گزارش شده است .

[Downloaded from jmciri.ir on 2025-07-04]

برای توجیه این حالات، دلائل محکم و قابل قبولی ارائه نشده وآنچه که بیان شده بصورت فرضیه است از قبیل پیدایش حالت Auto_sterilisation ، نقش ماده تخفیف دهنده هاری Rabies Inhibiting Substance (RIS) که برخی آنرا معادل آنتی کور خنثی کننده می‌دانند . براساس همین مشاهدات وپدیده‌های مختلف دیگر سعی شده است سرنوشت ویروس هاری راکه بعنوان آنتی‌ژن وارد بدن حیوان میشود درشمای زیر منعکس سازند(۷).



مخازن ویروس درطبیعت: قبلاً باید متذکر شدکه حوزه انتشار جغرافیای ویروس هاری بسیار وسیع بوده ودر قریب ۷۵ کشور آلودگی به‌ویروس‌هاری‌دیده شده ودرسالهای‌اخیر انتشار بیشتری یافته و در ممالکی‌که از سالها قبل از وجود بیماری پاك شده بوده‌اند، مجدداً رسوخ نموده وشایع شده‌است. بهمان نسبت که انتشار وپراکندگی حیوانات وحشی درمناطق مختلف کره زمین متفاوت‌است،مخازن ویروس هاری نیز ازقاره‌ای بقاره دیگرواز منطقه‌ای به‌منطقه دیگر جغرافیائی متفاوت بوده و درحال حاضر انتشار جغرافیائی آنها بقرارزیرمیباشد: شغال درآسیاوآفریقا ـ روباه در اروپا وکانادا ـ روباه ، شغال ، گرگ درکشورهای خاورمیانه ـ موش‌خرما درهندوستان‌وآفریقای‌جنوبی و بالاخره خفاش حشره خوار در آمریکای شمالی وخفاش خونخوار در مکزیك وآمریکای جنوبی. البته این بدان‌معنی نیست‌که مثلاً در آمریکای شمالی فقط خفاش مخزن ویروس میباشد بلکه درکنار آن، مخازن ویروس‌دیگری‌نیزمیباشند، منتهادراکثرمواردخفاش است ویااینکه در ممالك خاور میانه گاهی روباه ، زمانی شغال و یا گرگ مسئول نگهداری ویروس در طبیعت میباشند و حتی درایران‌که بیماری هاری دراکثر نقاط آن دیده شده دربرخی‌از مناطق روباه ودر برخی شغال وشاید در نقاطی هم گرگ مخزن ویروس باشد . متأسفانه تحقیق‌کافی برای شناختن حیواناتی که عـامل نگهداری وانتشار ویروس هاری در ایران میباشند بعمل نیامده وآنچه‌که دراین باره گفته و نوشته شده مبتنی برمشاهده بوده، نه‌تحقیق وتجربه بعبارت دیگرتکیه برتعداد حیوانات‌شده وآنکه رقم بزرگتری‌را درآمارحیوانات هار نشان میداده مورد توجه قرار گرفته و چون گرگ وسگ واجد این‌شرط بوده‌اند، لذا آنها را بعنوان مخزن ویروس وعامل انتقال وانتشار بیماری شناخته‌اند. حال آنکه ممکن‌است نقش‌حیوان‌دیگری چون روباه ویاشغال‌دربقاء وانتشار ویروس درطبیعت مهمتر باشد ولی‌بخاطر اینکه خوی تهاجم و گزندگی ندارند رقم کوچکی را در ارقام آمارحیوانات گزنده‌تشکیل‌داده ومورد توجه قرارنگرفته‌باشند. کثرت روباه وشغال درکشور ایران دربرابر گرگ وسگ‌هـای ولگرد بسیارزیاد است، لذا این دوحیوان میتوانند نقش‌مهمتری دراشاعه‌وانتشار ونگهداری(از حیوان‌به‌حیوان) ویروس درطبیعت داشته باشند وبطوریکه نشان‌داده شده است ۷۵٪ روباههای‌منطقه قطبی درشمال روسیه درمواقع همه‌گیری و۳٪ آنها در فاصله دو همه‌گیری آلودگی بویروس هاری را داشته‌اند (۸). و هم‌چنین توانسته‌اند از مغز روباهی‌که بظاهر سالم بوده ویروس هاری را جدا کنند(۸).

نویسندگان این‌مقاله درسال ۱۳۴۹، موفق بجدا کردن ویروس هاری از مغز و غدد بزاقی دو روباه از ۸۸ روباه شکار شده در منطقه اکینلو واقع بین همدان و بیجار گردیدند (۹). و نسبت آلودگی نشان میدهد، که احتمالاً مطالعه در زمان آرامش بین دوهمه‌گیری انجام شده است .

یکی از محققین موفق‌به‌نشان دادن آنتی‌کور خنثی‌کننده‌ویروس هاری در ۵٪ روباههای سالم و ۱۴٪ راسوهای سالم (نوعی راسو که بفرانسه Mouffette وبانگلیسی Skunk گویند) گردیده‌است (۱۰). هم چنین وجود آنتی‌کور خنثی کننده را در نزد ۱۴٪ سگ‌های واکسینه نشده آدیس‌آبابا پیدا کرده‌اند (۱۱)، و این نشان میدهدکه بیماری هاری درنزد این سگ‌ها بصورت خفیف ونامرئی بوده است .

نگارنده وهمکاران همین حالت را نزد روباههای ایران نشان داده وآنتی‌کور خنثی‌کننده را در ۱۴٪ از آنها پیدا نموده‌ایم. (مدارك منتشر نشده)

اگر مطالب فوق تااندازه‌ای روشنگر وضع مخازن ویروس‌هاری در قاره اروپا وآسیا باشد، تتبعات وتحقیقات دیگری در آنسوی اقیانوس‌هابعمل آمده ونمایشگرصحنه‌های دیگری ازوضع‌مخازن ویروس‌هاری در قاره آمریکا میباشند که به‌اجمال اشاره نموده ومیگذریم .

[Downloaded from jmciri.ir on 2025-07-04]

درآمریکای‌جنوبی، محققین کشور برزیل ازجمله Carini درسال ۱۹۱۱ درایالت Sao Paolo توجه به‌بیماری‌هاری‌نموده‌ووجود آنرا بانشان دادن جسم نگری درمغز گاوهای تلف شده ازاین بیماری اعلام داشت. وهمین محقق دریادداشت‌های خود خاطر نشان میسازدکه‌درمنطقه‌آلوده، سگ‌ها مبتلا به‌هاری نبوده‌وعامل انتقال بیماری به‌گاوها مشخص ومعلوم نیست ولی باهوشمندی ودقت تمام‌متذکر میشودکه درروز روشن‌تعدادی خفاش‌دراطراف گله‌های‌گاو مشاهده میشود وگاوهائی‌که بوسیله این خفاش‌ها گزیده میشوند مدتها بعد دچار هاری میگردند. با وجودیکه دانشمند فوق موفق به جدا کردن ویروس هاری از خفاش‌های فوق نمی‌گردد، معذالك اشاره‌ایکه بوجود خفاش‌ها میکند سبب میگرددکه Rehaag وHaupt درسال۱۹۲۱، توفیق یابندواعلام نمایندکه هاری‌گاوهای برزیل ازنوع‌هاری فالج بوده ویك‌نوع خفاش بنام فیلوستوما سوپرسیلاتوم عامل‌انتقال ویروس میباشد. Lima, E. de Oueiroz و Torrez, S. درسالهای۳۵-۱۹۳۴، خفاشی‌حشره‌خوار باتمایل به‌خونخواری‌بنام وامپیر (Desmodus Rotundus R.) رابعنوان‌عامل‌انتقال‌ویروس هاری معرفی کرد. بالاخره درتربنیداد (۱۲) مطالعات مفصلی درباره هاری وامپیر نموده ونشان داده‌که برخی از آنها دچار هاری فالج وبرخی دچارهاری سرکش‌وعده‌ای دیگر بهبود یافته ودرطی ماههای‌بعد قابلیت انتقال ویروس‌هاری‌را داشته‌اند. واین‌پدیده‌را نه‌تنها بطور طبیعی‌یعنی‌نزد خفاش‌های شکارشده مشاهده‌نموده‌اند، بلکه‌بطور تجربی‌نیزمحقق شده است. پس ازاین تحقیقات ونتایج مقدماتی توجه‌محققین‌واهل‌فن‌هرچه بیشتر معطوف‌خفاش‌ها گردید بطوریکه درسال۱۹۵۴، اولین‌مورد هاری در نزدخفاش‌شرح داده‌شد(۱۳)، ودامنه تجسس بقدری گسترش یافت‌که امروزه وجود هاری در نزد خفاش‌های ۴۷ ایالت از ایالات‌متحده آمریکا نشان داده‌شده و از ۴۸ گونه مختلف خفاش ساکن این سرزمین ۲۶ گونه آلودگی به هاری داشته‌اند. البته تاکنون دیده نشده است که خفاشی تا آخر عمرش حامل سالم ویروس هاری باشد ولی ثابت شده است که خفاش حساسیت فوق‌العاده نسبت بویروسی که از حیوانی غیر ازخفاش‌بدست‌آمده باشد دارد ولی دربرابرویروسی که از خفاش‌بویژه ازخفاش هم‌گونه‌جداشده‌باشد مقاومت بیشتری نشان می‌دهد (۱۴).

درجریان تحقیقات مربوط به‌هاری خفاش‌ها تجربه مهم دیگری درسال ۱۹۶۲، صورت گرفت(۱۵) ودریکی از غارهای ایالت تکزاس‌که پناهگاه میلیونها خفاش است تعدادی حیوان از قبیل روباه وگرگ را طوری در قفس‌ها قرار میدهندکه ارتباط آنها بامحیط خارج‌کاملاقطع بوده وسرایت بیماری‌هاری جز ازطریق هوا از راه دیگری امکان‌پذیر نبوده است. باوجود این تمام حیوانات فوق‌الذکر مبتلا به هاری میشوند و بدین وسیله طریق سرایت هاری را به‌کارگرانی‌که دراین غارکار میکرده‌اندو بدون سابقه گزش دچار هاری شده بوده‌اند، نشان داده میشود و اعلام میدارند که ممکن است ویروس هاری همراه هوا و احتمالا از طریق دستگاه تنفسی وارد بدن گشته وباعث بیماری گردد.

تحقیقات بعدی نشان داده‌که نه‌تنها ویروس هاری قادر است از طریق هوا سبب ابتلاء حیوانات آزمایشگاهی به‌هاری گردد بلکه قابل تکثیر درنسج ریوی این حیوانات بوده وقبل ازبروز علائم بیماری خود را به‌قصبةالریه رسانده وبصورت آزاد درآنجا دیده میشود (۱۶).

تشخیص آزمایشگاهی ویروس‌هاری

رنگ‌آمیزی: جهت رنگ‌آمیزی آنتی ژن هاری از روش‌های مختلفی استفاده میشود ولی روشی را که بهتر نتیجه میدهد و متداولتر است‌توضیح میدهیم.

رنگ‌آمیزی سلرز (۱۷) ـ تهیه رنگ‌سلرز:

محلولهای اصلی ۱ـ بلو دومتیلن ده گرم

متانول مقدارکافی برای یك‌لیتر

۲ـ فوشین قلیائی پنج گرم

متانول مقدارکافی برای نیم‌لیتر

محلولهای فوق را در شیشه‌های رنگی، در سمباده‌ای یا در پیچی نگهداری میکنیم. در موقع مصرف یك قسمت از محلول نمره ۲ ودوقسمت از محلول نمره ۱ را مخلوط نموده بکار می‌بریم.

روش رنگ‌آمیزی: قبل ازاینکه گسترده خشك شود آنرا بمدت چند ثانیه درمحلول رنگ قرار داده، بلافاصله با آب می‌شوئیم ومیگذاریم تاخشك شود سپس یك قطره روغن میکروسکپ‌بر آن نهاده وبکمك ایمرسیون‌دنبال اجسام نگری میگردیم.

اجسام‌نگری وتشخیص افتراقی(۱۷): بارنگ‌آمیزی‌سلرزاجسام نگری باشکال‌گرد یابیضی برنگ قرمز دراندازه‌های مختلف در سیتوپلاسم‌نرونها دیده میشود. نشانه مشخص این‌اجسام ساختمان داخلی آنهاست‌که عبارت از دانه‌های بازوفیل‌که رنگ آبی تند و یاسیاه بخود میگیرند و باندازه‌های ۰/۲ تا ۰/۵ میکرون میباشند.

جسم نگری بااین رنگ دانه‌های داخلی‌اش گاهی بصورت غنچه دیده میشود ولی این منظره بوفور دیده نمیشود و معمولا رنگ دانه‌های داخل‌جسم‌نگری نظم‌وترتیب خاصی‌ندارند ولی بهرحال که باشند ازنظر تشخیص اهمیت شایانی دارند.

[Downloaded from jmciri.ir on 2025-07-04]

گاهی ازاوقات بانواع انکلوزیونها درمغزحیوانات برمیخوریم که درنظر اول شباهت زیادی باجسام نگری بچشم میخورد. این انکلوزیونها بعلت بیماری Jeune age یا Rubarth درنزدسگ ویاروباه پیدامیشوندکه بیشتردرتالاموس‌وهسته بطنی‌دیده‌میشوند. درمغزگربه و موش سفید آزمایشگاهی نیزگاهی انکلوزیونهای اسیدوفیل غیر اختصاصی دیده میشودکه تشخیص افتراقی آنها با اجسام نگری درتابلو زیر منعکس است :

انکلوزیونهای غیرهاری	جسم نگری
۱ــ فقدان رنگ دانه‌های داخلی	۱ــ وجود دانه‌های‌داخلی بازوفیل
۲ــ ماده اصلی یکنواخت‌است	۲ــ ماده اصلی یکنواخت نیست
۳ــ نور را بشدت‌منعکس‌میسازند	۳ــ نور را کمترمنعکس میسازند
۴ــ رنگ گلی تند	۴ــ رنگ قرمز تند

گاهی از اوقات انکلوزیونهـای آتیپیك داخل سیتوپلاسم نزد حیواناتیکه در شروع بیمـاری هاری کشته شده‌اند دیده میشود، لذا توصیه میگرددکه باید حیوان را بحال‌خودگذاشت‌تابمیرد. بدین‌ترتیب‌فرصت مطالعه‌علائم‌بالینی‌را که‌خودبرای‌تشخیص‌اهمیت فراوان دارد ازدست نداده ودرضمن منظره میکروسکپی اجسام نگری‌کاملترخواهد شد. تظاهر، اندازه ، فراوانی اجسام‌نگری با مدت بالینی‌بیماری نسبت مستقیم دارد. بطوریکه اگر بیماری دوران کامل را طی‌کرده باشد امکان پیـدا کردن اجسام نگری خیلی زیادترمیشود. هم‌چنین اجسام‌نگری بزرگتر، فراوانتر و بارشد کامل ساختمان داخلی ظاهرمی گردند.

آزمایش ایمونوفلورسانس(۱۸): این‌آزمایش اگربدقت انجام شود نتیجه‌اش سریع‌ونسبتاً کم‌خرج بوده وازطریقه تلقیح به‌موش سفیدآزمایشگاهی وتهیه گسترده با متدهای مختلف بهتر است. علاوه برآن بااین روش میتوانیم روی مغز تازه ، یخ زده و یـا نگهداری شده درگلیسرین عمل نمائیم . کیفیت نتیجه‌گیری از میکروسکپ فلورسان مربوط به‌کار بردن کنژوگه است (منظور از کنژوگه آنتی‌کور نشان گذارده شده میباشد). طرق مختلفی جهت تهیه‌کنژوگه وجود دارد ولی بهتراست که ازکنژوگه‌ایکه سازمان بهداشتی کالیفرنیا توصیه کرده‌است استفاده گرددکه از سرم هامستر مصون شده استفاده میشود . در این طریقه میتوان مغز، غده بزاقی و کشت‌های نسجی را مورد آزمایش قرار داد. آزمایش درصورتی منفی تلقی میشود، که لااقل روی چهار نمونه (مغز یا غده بزاقی) انجام شده‌باشد. درمورد نسج مغزی‌میبایست دوبرداشت از شاخ آمون و دوتای دیگر از مخچه یا تنه مغزی انجام شود .

چنانچه رنگ‌آمیزی خوب انجام شده باشد روی لام شاهد و لام مورد آزمایش که اگر دارای آنتی ژن هاری باشد قسمت‌هائی برنگ سبز (رنگ سیب نارس) یا زرد متمایل بسبز بافلورسانس درخشان خواهیم دیدکه اندازه آنها متفاوت‌است. بعضی‌هابقدری کوچك هستندکه بزحمت دیده میشوند وبرخی بزرگتر وگاهی بشکل رشته میباشند . برای اطمینان باید لامهای مورد آزمایش را بالام‌های شاهد مقایسه نمود.

آزمایش ایمونوفلورسانس‌غیرمستقیم: این روش بـرای نشان دادن آنتی کور موجود در سرم و هم‌چنین برای تعیین مقـدار آنتی‌کور بکار می‌رود. برای پی‌بردن بوجود آنتی‌ژن هاری‌نیز میتوان از این روش استفاده کرد ولی چون احتیاج به‌کنژوگه اختصاصی دارد عملاً کمتر بکاربرده میشود.

آزمایش سرونوترالیزاسیون (۱۹) : برای بررسی یك‌ویروس ناشناخته ویروس مزبوررا همراه یك سرم طبیعی ویك ایمن‌سرم هاری تیتراژ میکنیم. وقتی ویروس مزبور توسط ایمن سرم‌هاری خنثی شد وسرم طبیعی تأثیری درخنثی‌کردن آن نداشت میتوان مطمئن‌شدکه ویروس موردآزمایش‌نمونه‌ای از ویروس‌هاری‌است. قضاوت در نتیجه این آزمایش بقرار زیر است : لوگاریتم تیتر LD 50 مخلوط مغز موردآزمایش باسرم طبیعی را حساب‌کرده وآنرابالوگاریتم‌تیتر LD 50 مخلوط مغزموردآزمایش‌راباایمن سرم مقایسه میکنیم چنانچه تفـاوت این دو بالاتـر از ۲ بود یعنی اگر ایمن سرم بیشتر از ۱۰۰ LD 50 ویـروس را خنثی کرد میتوان گفت‌که نمونه مورد آزمایش دارای آنتی‌ژن هاری بوده‌است. ضمناً به‌توسط‌آزمایش‌سرونوترالیزاسیون میتوان‌تعیین عیار آنتی‌کور درسرم ناشناخته نمود وبدین‌منظور بجای‌استفاده نمودن از ایمن سرم از ویـروس مشخص هاری (ویروس ثابت) استفاده می‌کنیم . استفاده از ویروس مشخص هاری و ایمن سرم با تیتر معین بعنوان شاهد دراین‌آزمایشات ضرور است .

رنگ‌آمیزی با ایمونوپراکسیداز (۲۰) : این طریقه مثل روش ایمونوفلورسانس است منتهی کنژوگه کردن آنتی‌کور بوسیله پراکسیداز انجام میشود ومزیت این تکنیك اینست‌که پس‌ازتهیه گسترده‌ها و اضافه نمودن کنژوگه بآنها میتوان لام‌های مورد آزمایش را مستقیماً بامیکروسکپ معمولی دید.

هماگلوتیناسیون پاسیو(۲۱): این روش اخیراً جهت تیتـراژ آنتی‌کور هاری درسرم بکار برده میشود، که مربوط به‌برخورد آنتی‌کور وآنتی‌ژن هاری است، که روی گلبول قرمز غاز بکمك کلرورکرم ثابت شده باشد . مزیت این روش به‌روش‌های دیگر ازقبیل سرونوترالیزاسیون، فیکساسیون کمپلمان وغیره‌اینست‌که درهمان روز دریافت سرم نتیجه آزمایش بدست می‌آید . وسائل مورد احتیاج ارزانتر تمام میشود واحتیاج به‌تجهیزات مخصوص جهت انجام کار نیست . عکس‌العمل‌های غیراختصاصی کمتر بوده

[Downloaded from jmciri.ir on 2025-07-04]

وغیرفعال نمودن سرم باحرارت وجذب آن روی گلبولهای غیر حساس کافی میباشد. نتـایج بدست آمده از این روش با طریقه سرونوترالیزاسیون پیش‌سوری‌مقایسه شده رضایت‌بخش بوده‌است.

آزمایش بیولوژیکی : تلقیح به‌سوری سفید(۲۲): این طریقه باوجود اینکه روش ساده‌ای برای تشخیص‌میباشد ولی لازم است که دقت زیادی برای دریافت نتیجه صحیح ازآن بکار برده شود وبهتراست از سوریهای بسن۲۱ تا ۳۵ روز بوزن ۸ تا ۱۲ گرم که تزریق داخل مغزی بآنها ساده‌تر وکنترل و نگهداری آنها نیز آسان‌تر است استفاده شود . سوریهای انتخاب شده باید در کمال سلامت باشند. برای تلقیح سوریها از مغز یـا غدد بزاقی حیوان مشکوك به‌هاری استفاده میکنیم . چنانچه با دقت وسائل برداشت نسج مغزی را استریل نموده و مغز برداشته شده را در یك ظرف کاملا استریل قرار دهیم درصورتیکه مغز گندیده نشده باشد احتیاجی به‌اضافه کردن آنتی بیوتیك به‌محلول حاصل‌ازمغز نیست. ولی‌اگرمغز موردآزمایش تازه نبوده وآلودگی داشت‌از مخلوط پنی‌سیلین واستربتومیسین به‌نسبت۵۰۰ واحد پنی‌سیلین و ۲ میلی گرم استربتومیسین دریك سانتیمترمکعب‌آب به‌محلول مورد آزمایش اضافه می‌نمائیم و پس از نیم‌ساعت تلقیح را انجام میدهیم . درمورد غده بزاقی افزودن آنتی‌بیوتیك ضروریست . مقدار مایعی‌که به مغز هرسوری تزریق میشود ۰/۰۳ سانتیمتر مکعب از محلول ۵ درصد مغـز یا غده بزاقی است . این تزریق با سرنگ $\frac{1}{4}$ سانتیمترمکعب باسوزن نمره ۲۶ یا۲۷ بطول ۱ تا ۱/۵ سانتیمتر انجام میشود. برای تلقیح لازم است که سوریهارا بااتر بی‌هوش نمود.

لازم است سوریهای تلقیح شده لااقل۲۱روزتحت مراقبت باشند. مرگ ومیر حاصل تا ۴۸ ساعت پس‌از تلقیح را نمیتوان بحساب هاری گذاشت. معمولاً سوریهائی‌که مبتلا به‌هاری شده باشندعلائم بارزی دارندکه عبارتنداز:نخوردن غذا،لاغری، سیخ شدن موها، لرزش و بالاخره ظهور فلج در پاهای خلفی که پیشرفت نموده ومنجر بمرگ میشود.

مغزسوریهای مرده را جهت جستجوی‌آنتی‌ژن هاری باروش‌های آزمایشگاهی‌که قبلاً شرح داده شد بررسی میکنیم.

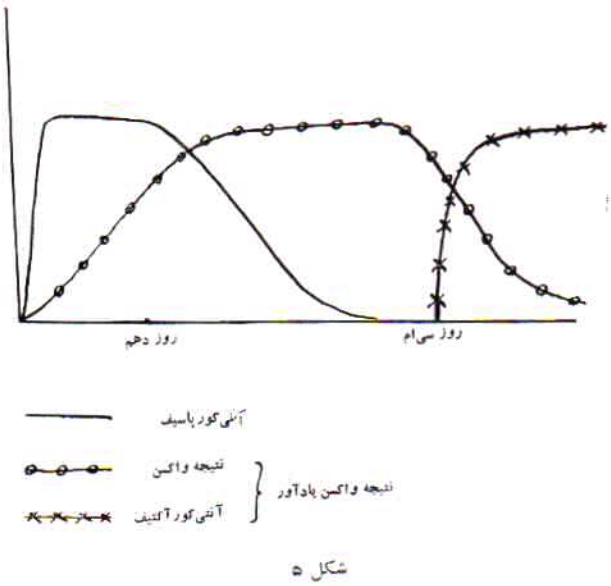
یادآوری نکاتی چند درباره درمان ودرمان پیش‌گیری هاری

وقتی‌که بیماری هاری باعلائم مثبت ومشخص بالینی تأیید گردد بیمارعاقبتی جز مرگ ندارد و متأسفانه درعالم پزشکی داروی شفابخشی برای اینگونه بیماران وجود ندارد. درسالهای اخیر کوشش‌فراوانی‌برای نجات بیماران بکمك رآنیماسیون‌مخصوصاً با حفظ اعمـال تنفسی بکمك ریه‌های مصنوعی بعمل‌آمده ، ولی بدبختانه نتایج حاصل ازاین‌تدابیر نیز جزطولانی‌کردن دوران بیماری نبوده‌است .

درمورد درمان پیش‌گیری‌هاری‌از زمان‌پاستورتاکنون‌پیشرفتهاو موفقیت‌های چشم‌گیری حاصل‌شده‌است. اگرچه اساس این‌درمان همانست که توسط پاستور پیشنهاد وعرضه شده ولی درطی سالها تحقیقات مداوم دانشمندان تغییرات عمده ومهمی درنحوه تهیه و فراهم نمودن واکسن داده شده و امروزه واکسن‌هائی‌که قدرت آنتی‌ژنیکی بسیارخوبی دارند تهیه وبرای مصون ساختن هار ـ گزیدگان مصرف میشود . باید اذعان کردکه درمان پیشگیری هاری فقط باواکسن موفقیت‌آمیز نبوده وموارد ناکامی دردرمان انگیزه پژوهش‌هائی بودکه منجر به‌توصیه استعمال توأم واکسن وسرم گردیده‌است.

برای اولین بار در سال ۱۸۸۹، استعمال سرم تـوسط Babes و Lepp و Cerchez انجام‌وتوصیه‌شده‌است. درسال۳۷ـ۱۹۳۶، نتایج استعمال سرم توسط Covell اعلام شد و بالاخره انستیتو پاستورایران درمان مختلط «سرم ـ واکسن» را بکار بردونتایج درخشان حاصل از آنرا اعلام داشت (۲۳). پس از آن سازمان جهانی بهداشت درمان مختلط را توصیه نمود (۲۴)، که امروزه دراکثر مراکز درمانی بکاربرده میشود.

درایران از سرمی استفاده میشودکه درانستیتو رازی (حصارك) روی قاطر تهیه وپس‌ازخالص وتغلیظ نمودن (۲۵ و ۲۶) بصورت خشك دراختیار انستیتوپاستور برای مصرف گذاشته میشود. بکار بستن درمان مختلط در ایـران نتایج فوق العـاده رضایت‌بخشی داشته(۲۷) بطوریکه در طی سیزده سال از۲۰۲ هارگزیده که درمان پیشگیری با سرم ، واکسن انجام شده فقط ۳مورد مرگ مشاهده شده یعنی ۱/۵ درصد، درصورتیکه درهمین‌مدت‌از۳۷۰ هارگزیده‌که درمان پیشگیری فقط باواکسن بوده، در۴۴ مورد یعنی۱۲ درصد مرگ دیده شده‌است .



شکل ۵

[Downloaded from jmciri.ir on 2025-07-04]

درشکل (۵) چگونگی تیتر آنتی کورها (پاسیف در اثر تزریق سرم و آنتی کور آکتیف ساخته شده توسط بدن دربرابر واکسن) نشان داده شده و ملاحظه میشود که با تزریق سرم ، واکسن، و واکسن یادآور سطح آنتی کور بالا بوده وزمانهای مختلف بعداز گزش را می‌پوشاند تا ویروس فرصتی برای رشد و تکثیر نیابد و این خود بظاهر بزرگترین حسن درمان مختلط میباشد .

با تمام موفقیت‌هائی که در درمان پیش گیری هاری بدست آمده معذالك بازهم موارد شکست وناکامی بچشم میخورد وهمین‌مسأله باعث شده که محققین از پا نه‌نشسته وبه‌بررسی‌وتجسسات پی گیر خود تا نیل بموفقیت‌کامل ادامه دهند. اخیراً نشان داده شده‌است که تزریق ایمن سرم همولوگ همزمان وحتی چندین‌روز قبل‌از تزریق واکسن بمقیاس قابل ملاحظه‌ای مانع بوجود آمدن آنتی کوراکتیف درنزد خرگوش می گردد(۲۸). نظیراین آزمایش درنزد انسان نیز صورت گرفته و نشان داده شده که ایمن سرم همولوگ بامقادیرمختلف‌اثرات تخفیف دهنده متفاوت برعکس‌العمل بدن درجهت ساختن آنتی کور دربرابر واکسن دارد ودر مقدار معینی از سرم اثـر تخفیفی آن بحداقل می‌رسد (۲۹) . هم‌چنین‌تحقیقات ارزنده‌ای درباره ایمونوگلوبولین‌ها بعمل‌آمده و نشان داده شده که نوع IgM (19S) ۷۹٪ در روز سیزدهم و ۴۷٪ ، در روز بیست وهفتم بعد از واکسیناسیون باواکسن تهیه شده روی جنین اردك از مجموع ایمونوگلوبولین‌ها را تشکیل میدهد. درصورتیکه IgG (7S) از روزسیزدهم ببعد ظاهرشده و درحدود روز چهل و یکم بحداکثر مقدار می‌رسد(۳۰) . چون IgM درجریان خون باقی‌مانده ودر انساج آنجائی‌که بوجودآن احتیاج است وارد نمیشود، لذا باید چاره‌ای اندیشید ودر نحوه واکسیناسیون تغییراتی داد تا IgG درفاصله کمی بعد از تزریق واکسن‌ظاهرشود. چون‌IgG برخلاف‌IgM قادر به‌نفوذ درانساج و اشغال جایگاههای مخصوص سلولی بوده و اهمیت مصون‌سازی آن بیشتراست.

اکنون باختصاراشاره به‌نکاتی‌چند میکنیم‌که در درمان پیشگیری هاری حائز اهمیت بسیار میباشند و شایسته است که مورد توجه عموم بویژه پزشکان و مسئولین درمانی باشد.

۱- شستشوی زخم - شستشو باید هرچه زودتر و هرچه کاملتر انجام‌گیرد آنچه‌که توصیه میشود عبارتست از آب صابون و بنا بعقیده کارشناسان سازمان جهانی بهداشت آب صابون ۲۰ درصد مناسب‌ترین غلظت‌هاست وباید سعی نمودکه آنرا به‌تمام زوایا و حفره‌های زخم رسانید وبدین‌منظور میشود از فرچه ریش‌تراشی استفاده نمود. درصورت نبودن صابون در دسترس میتوان‌شستشو را بامقدار فراوان‌آب انجام داد.

۲- خودداری ازدوختن زخم - این نکته بسیارجالب بود وباید مورد توجه باشد چه‌اکثر مجروحین به‌پزشك مراجعه می کنند، تامورد درمان واقع‌شوند. شاید نه‌بقصد درمان پیشگیری‌ها بلکه برای ترمیم جراحت وزخم ومتأسفانه گاهی‌توجه باین‌نکته مهم نشده وبادقت تمام زخم دوخته میشود، درصورتیکه زخم میبایست باز نگه‌داشته شود ، مگر درمورد زخم‌هائی‌که بشدت خونریزی می کنند ودراین‌موردکافی‌است‌که فقط رگ خون‌دهنده بسته‌شود. حتی بهتر است از پوشانـدن زخم با گاز، پنبـه و بانـد، نیز خودداری شود.

۳- واکسن یادآور - باوجود اینکه قبلاً درمورد واکسن یادآور صحبت شده، معذلك از لحاظ اهمیتی‌که دارد مجدداً یادآوری و تأکید میشودکه واکسن یادآور میبایست در سه‌نوبت بقرار زیر انجام شود: اولین‌و دومین واکسن یادآور را به‌ترتیب ده‌و بیست روز پس از پایان دوره درمان پیشگیری تزریق کرد، و سومین واکسن میبایست درفاصله سه الی شش‌ماه تزریق گردد.

REFERENCES:

1- CAMPBELL, T.B and al. Bull. O.M.S. Present Trends and the Future in Rabies Research. (1968) 38, 373-381.

2- CHRONIQUE O.M.S. Recherche sur La Rage à l Institut Wistar, (1968): 22, 546-549.

3- GAVRILA, I et al. Ann. Inst. Pasteur La Rage chez l'homme, Observation personnelles sur la sero_prophylaxie, l'incubation prolongeé et les essais thrapeutiques. (1967) 112, 504_515.

4- SABETI, A. et al. Ann. Inst. Pasteur: Echecs éloignés du Traitement Antirabique. (1964) 106,307-310.

5- BALTAZARD M. Rereue d'Immunologie: Le Traitement Antirabique, Réflexion sur quelques Experiences Recentes (1956) XX, 4, 207_214.

[Downloaded from jmciri.ir on 2025-07-04]

6- RUBIN, R.H et al. The J. of Inf. Dis : A case of Human Rabies in Kansas; Epidemiologie. Clinical, and Laboratory Considerations. (1970) 122, No 4, 318-322.
7- ANDRAL, L. Ann Inst. Pasteur Ethiopie : Une maladie Comme les autres; la Rage. (1964) 1. 5, 58-65.
8- KANTROVIC. R.A. J. Hyg. Epid. Micro. Immunolo: Natural Foci of Rabies, Like Infection in The Far North. (1964). 7, 100-110.
9- KARIMI, Y. et TEYMOURI, H. Acta Medica Iranica: Contribution à l'étude de l'infection Rabique chez les Renards de l'Iran. (1971) Vol 14, 93-98.
10- TIERKEL E. S. Acad. Press. Inc. New York: Rabies in: Advances in Veterinary Sciences. (1959) 5, 183.
11- ANDRAL L et al. Ann. Inst. Pasteur. Etudes Expérimentales sur la Rage En Ethiopie (1957)93,475.
12- PAWAN J.L. Ann. Trop. Med. Parasit Rabies in the Vampire bat of Trinidad with special reference to the clinical course and Latency of Infection. (1936) 30, 401.
13- VENTERS H.D and al. American J. Publ. Health.: Rabies in bat in Florida (1954) 44, 182.
14- ATANASIU, P. Faisons le Point Q.S. BELLON: Etat actuel des reservoirs de Rage dans le monde et de l'Immunisation avant exposition chez l'homme. (1970) 43-48.
15- CONSTANTIN D.G. Pull. Hlth. Rep.: Rabies Transminion by non bite route. 1962 77, 287-289.
16- ATANASIU, P. Internat. Symp. on Rabies, Talloires.: Transmission de la rage par la voie aerienne aux animaux de laboratoire.
17- TIERKEL E.S. La rage, Technique de laboratoire, O.M.S. Génève: Prépration du Colorant de sellers, Les corps de Negri, diagnostic differentiel (1967) P.P. 35-40.
18- DEAND, J. La rage, Technique de laboratoire, O.M.S. Génève: Epreuve des Anticorps Fluorescents. (1967) PP. 61-71.
19- HARAD, N. & JOHNSON, B. La rage, Technique de laboratoire, O.M.S. Génève: Epreuve Seroneutralisation du reirus (1967) P.P. 85-88.
20- ATANASIU, P. et al. Ann. Inst. Pasteur: Immuno-peroxydase. Nouvelle technique spécifique de mis en evidence de l'Antigène Rabique intra et extra-cellulaire en Microscopie optique. (1971) 121, 247-250.
21- GOUGH, P.M. & DIERKS, R E. Bull. OMS: Passive Hemagglutination Test for Antibodies Against Rabies Virus. (1971) 45, 741-745.
22- KOPROWSKI, H. La rage, Technique de laboratoire, O.M.S. Génève: Epreuve d'Inoculation à la Souris. (1967), PP. 72-84.
23- BALTAZARD M. et al. Bull. O.M.S: Essai pratique du serum antirabique chez les mordus par loups enragés. (1655) 13, 747-772.
24- Comité O.M S., D'EXPERTS de la Rage 1966, 5e rapport.
25- MIRCHAMSI, H.Revue Immuuol. (Paris): Sur la préparation et la Concentration du serum Antirabique en Iran (1962) 26, 60-91.
26- MIRCHAMSI, H. et al. Arch. Inst. Razi: Contribution à l'etude de la Rage et du Traitement Antirabique en Iran. (1964) 16, 82-89.
27- SABETI A. et al. Ann. Inst. Pasteur.: Traitement des mordus par loups enragés en Iran, Situation actuelle. (1964) 106, 303-307.
28- WIKTOR, T.J. et al. Bull. O M.S : Inhibitory Effect. of Passive Antibody on Active Immunity Induced Against Rabies by Vaccination. (1971) 45, 747-753.
29- CABASSO, V.J. et al. Bull. O.M.S: Rabies Immune Globuline of Human Origin. Preparation and Dosage Determination in Non Exposed Volunteer Subjects. (1971) 45, 303-315.
30- RUBIN, R.H. & al. The Lancet: Immunoglobulin Response to Rabies Vaccine in man. (1971) 2, 625-628.

[Downloaded from jmciri.ir on 2025-07-04]