

بررسی سرواپیدمیولوژی بیماری لوسمی ویروسی در گربه‌های ولگرد و خانگی تهران با استفاده از روش الیزا

شهرام جمشیدی^{۱*}، آیدین ساعدی^۲ سعید بکایی^۳

(۱) بخش بیماری‌های دام‌های کوچک، گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(۲) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(۳) گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(دریافت مقاله: ۱ شهریورماه ۱۳۸۴، پذیرش نهایی: ۲۷ اسفند ماه ۱۳۸۴)

چکیده

ویروس لوسمی گربه‌ها، ترزوویروسی است با انتشار جهانی که در صورت ایجاد عفونت مقاوم، حیوان در معرض بیماری‌های کشنده از قبیل لنفوم، لوسمی، اختلالات سیستم خون‌ساز و کم‌خونی قرار خواهد گرفت. در این بررسی برای اولین بار در ایران میزان شیوع سرولوژیک ویروس لوسمی گربه‌ها با استفاده از کیت تجاری الیزا (تولید شرکت سننوبیوتیک، آمریکا) مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه برداری به شکل تصادفی از ۳۰۳ گربه خانگی و ولگرد به عمل آمد. در پنج مورد (۴/۸ درصد) پاسخ سرولوژیک مثبت وجود داشت. تمام گربه‌هایی که واکنش سرمی مثبت داشتند در گروه گربه‌های خانگی قرار داشتند. اختلاف معنی‌داری در گربه‌های دارای واکنش سرمی از نظر سن و جنس وجود نداشت، با این حال اکثر گربه‌های آلوده سن کمتر از ۳ سال داشتند. با توجه به برخی مشکلات موجود در برنامه‌های واکسیناسیون علیه ویروس لوسمی گربه‌ها، تشخیص حیوانات آلوده و جلوگیری از تماس آنها با حیوانات سالم، به عنوان بهترین روش پیشگیری این بیماری بشمار می‌رود.

واژه‌های کلیدی: ویروس لوسمی، سرولوژی، گربه.

تومورهای مختلف از جمله لنفوم بدخیم و لوسمی تشکیل می‌دهند. بروز لنفوم در گربه‌های آلوده بیشتر از موارد غیر آلوده بوده است. در یک مطالعه در آلمان در ۵۹ درصد گربه‌های مبتلا به لنفوم، آنتی ژن ویروس لوسمی مورد شناسایی قرار گرفته است و عقیده بر آن است که این تومور به دلیل ورود تصادفی قطعات ژنتیکی ویروس با ژنوم میزبان مرتبط ایجاد می‌شود (۴). این مطالعه برای اولین بار در ایران با استفاده از روش الیزا و به منظور تعیین وضعیت آلودگی به ویروس لوسمی در دو جمعیت گربه‌های ولگرد و خانگی تهران به عمل آمده است.

مواد و روش کار

در این بررسی ۵۳ قلاده گربه ولگرد که از مناطق مختلف شهر تهران با استفاده از تله زنده‌گیر جمع‌آوری شده بودند و همچنین ۵۰ قلاده گربه اهلی که به منظور معاینات دوره‌ای به درمانگاه دام‌های کوچک دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ارجاع می‌شدند مورد نمونه برداری قرار گرفتند. در هر مورد پس از ثبت مشخصات حیوان از قبیل سن و جنس از طریق وریدهای سطحی حدود ۴ میلی لیتر خون، جمع‌آوری و در لوله‌های محتوی سیترات سدیم (به منظور شمارش سلول‌های خونی) و بدون ماده ضد انعقاد (جهت جداسازی سرم) و بررسی حضور آنتی ژن ویروس لوسمی به آزمایشگاه ارسال گردید. کیت تشخیصی (Vira CHEK/ FeLV, Symbiotic Co, USA) بر مبنای تشخیص آنتی ژن بر روی سرم، پلاسما و خون کامل قابل استفاده بود. در کیت‌های مورد استفاده آنتی بادی مونوکلونال که با پراکسیداز نشان دار شده بود در کف گوده‌ها وجود داشت به منظور شناسایی آنتی ژن اختصاصی ویروس لوسمی (P27) مورد استفاده قرار گرفت. در صورت مثبت بودن نمونه سرمی، ویروس و

مقدمه

لوسمی ویروسی بیماری مسری و مهمی در گربه‌ها به شمار می‌رود که به دنبال تزاید یک ترزوویروس دارای RNA در بسیاری از بافت‌ها از جمله مغز استخوان، غدد بزاقی و اپیتلیوم تنفسی ایجاد می‌شود. اطلاعات موجود در ژنوم ویروس از طریق آنزیم رونوشت برداری معکوس پس از تبدیل به DNA وارد سلول میزبان گردیده و در صورت عفونت مغز استخوان تا آخر عمر در بدن حیوان باقی خواهد ماند. بر اساس شباهت‌های موجود از نظر توالی اسیدهای نوکلئیک عقیده بر آن است که این ویروس در میلیون‌ها سال پیش در بیابان‌های آفریقای شمالی از طریق گاز گرفتگی از بدن موش رت به گربه منتقل شده است (۲). بر اساس آزمایش‌های خنثی‌سازی و قدرت تزاید در بافت‌های مختلف، ویروس لوسمی به تحت گروه‌های A، B و C تقسیم شده است که نوع A آن در گربه‌ها دارای شیوع بیشتر بوده و در طبیعت به شکل طبیعی بین گربه‌ها انتقال پیدا می‌کند (۵، ۹). انتقال بیماری به شکل اولیه از طریق بزاق صورت می‌گیرد، با این حال انتقال عمودی از طریق مادر به جنین از راه جفت، به هنگام مراقبت پس از تولد یا در طی دوره شیرخوارگی نیز امکان‌پذیر است. پس از عفونت اولیه که اغلب از طریق دهانی بینی ایجاد می‌شود بر اساس وضعیت عملکرد سیستم ایمنی، سن میزبان، شدت آلودگی و مدت زمان در تماس قرار داشتن در برابر ویروس شرایط مختلف بالینی شامل بهمودی یا تولید مقدار بالای آنتی بادی محافظت‌کننده، ویرمی موقت یا پایدار و محدود ماندن ویروس در مغز استخوان (شکل تاخیری) ایجاد خواهد شد (۶). شایع‌ترین علائم بالینی حیوانات مبتلا را کم‌خونی غیر جبران‌شونده، ضعف فعالیت سیستم ایمنی و بیماری‌های ناشی از آن و ابتلا به



گره‌های نر که آزادانه از منزل خارج می‌شوند و بخصوص در فصل جفت‌گیری به دلیل نزاع بین آنها بیشتر در معرض خطر ابتلا به این بیماری قرار دارند. در حالی که ویروس بیماری لوسمی از طریق تماس نزدیک از یک گربه آلوده به گربه سالم منتقل خواهد شد، لذا حیواناتی که به شکل دسته جمعی در یک محل نگهداری می‌شوند و در تماس طولانی با یکدیگر قرار دارند، از یک ظرف غذا و آب و بستر مشترک استفاده می‌کنند؛ امکان ابتلا بیشتری برخوردار خواهند بود (۶). موارد مثبت در مطالعه حاضر با توجه به نوع نگهداری گربه‌های خانگی در ایران که در بیشتر موارد امکان تماس با حیوانات دیگر نیز برای آنها وجود دارد، بخصوص در شرایطی که بیش از یک حیوان و به شکل دسته جمعی نگهداری شوند قابل انتظار خواهد بود.

میزان شیوع بیماری لوسمی ویروسی در جنس نر و ماده مشابه نتایج این تحقیق تقریباً با سایر پژوهشگران یکسان می‌باشد. تنها در تحقیقات Lee و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که گربه‌های نر به دلیل پرسه زدن بیشتر و افزایش امکان تماس با ویروس از میزان شیوع بیشتری برخوردار بوده‌اند (۱۰). گرچه عفونت ویروس لوسمی در تمام سنین گزارش شده است با این حال با افزایش سن و همزمان با افزایش عیار آنتی بادی، احتمال ایجاد علائم بالینی کاهش خواهد یافت. به عبارت دیگر با افزایش سن با آنکه احتمال در معرض قرار گرفتن در برابر ویروس لوسمی بیشتر می‌شود، میزان حساسیت بروز ویرمی پایدار به شکل همزمان کمتر خواهد شد. بدین ترتیب میزان حساسیت نسبت به عفونت در بچه گربه‌های جوان همانند نتایج مطالعه حاضر بیشتر از سایر سنین است. بر اساس مطالعات به عمل آمده توسط Cotter در سال ۱۹۹۰ نشان داده شده است که اگر در ۳ ماهگی ۱۰ گربه در محل آلوده به ویروس لوسمی قرار داشته باشند پس از ۷-۵ ماه دچار آلودگی خواهند شد، در حالی که اگر در همان محل ۱۷ گربه بالغ نگهداری شوند پس از ۷ سال تنها ۳ مورد از آنها دچار آلودگی خواهند شد (۳). مقاومت سنی در این بیماری ممکن است به کاهش گیرنده‌های سلولی لازم به منظور ورود ویروس به سلول‌های هدف یا بلوغ فعالیت ماکروفاژها مربوط باشد (۶).

در آزمایش الایزا با استفاده از ایمونوکروماتوگرافی و آنتی بادی مونوکلونال، پروتئین بخش مرکزی ویروس لوسمی به نام P27 آزاد در پلاسما یا سرم مورد شناسایی قرار می‌گیرد (۶). با توجه به میزان حساسیت (۸۰ درصد) و ویژگی (۹۲ درصد) مناسب کیت الایزا مورد استفاده، مثبت بودن نتیجه این آزمایش حضور ویروس در خون آنها را به احتمال زیاد تقویت می‌کند. انجام آزمایش آنتی بادی درخشان مستقیم با شناسایی آنتی ژن ویروس در نوتروفیل‌ها و پلاکت‌های خون محیطی نشان دهنده عفونت مغز استخوان و یا بروز ویرمی مقاوم خواهد بود (۶). با این حال این آزمایش به عنوان آزمایش غربالگری توصیه نمی‌شود زیرا در این روش گربه‌هایی که در چند هفته اول مرحله ویرمی قرار داشته باشند که قاعدتاً برای گربه‌های دیگر عفونت‌زا خواهند بود مورد شناسایی قرار نخواهند گرفت (۸). اینکه آیا گربه دارای واکنش آنتی ژنی مثبت چه سرنوشتی پیدا خواهد کرد، تنها به ویرمی موقت دچار شود یا عفونت پایدار علائم شدیدتری را ایجاد نماید نیازمند تجدید آزمایش الایزا در فاصله زمانی حداقل

آنتی ژن‌های اختصاصی آزاد آن با آنتی بادی متصل به آنزیم متصل می‌شدند. پس از شستشو و اضافه کردن سوبسترای رنگ‌زا، ایجاد رنگ آبی واضح به معنی حضور آنتی ژن ویروس لوسمی تلقی می‌شد در حالی که در موارد منفی هیچ تغییر رنگی بوجود نمی‌آمد. نتایج بدست آمده در خصوص هر نمونه در تمام مراحل با نتایج نمونه‌های کنترل مثبت و منفی موجود در کیت مقایسه می‌گردید.

نتایج

بر اساس نتایج بدست آمده از ۱۰۳ قلابه گربه ولگرد و خانگی تحت بررسی در ۵ مورد (۴/۸ درصد) واکنش مثبت آنتی ژنی وجود داشت (جدول ۱). تنها گربه‌های خانگی دارای واکنش مثبت بودند و در هیچ یک از گربه‌های ولگرد آنتی ژن ویروس لوسمی مورد تشخیص قرار نگرفت. در بررسی آماری با روش دقیق فیشر جمعیت گربه‌های خانگی به شکل معنی داری از حساسیت بیشتری نسبت به ابتلا به ویروس لوسمی برخوردار بودند (۳۲ درصد = P fisher). ۳ قلابه از گربه‌های دارای واکنش مثبت آنتی ژنی، از جنس نر و ۲ مورد نیز ماده بودند. بر اساس مطالعه آماری مابین دو جنس نر و ماده اختلاف حساسیتی از نظر ابتلا به بیماری لوسمی ویروسی وجود نداشت (P fisher=1). همچنین ۴ قلابه از گربه‌های با واکنش مثبت در گروه سنی زیر یکسال و یک مورد نیز در گروه سنی ۱۲ تا ۶۰ ماه قرار داشتند، در حالی که هیچ یک از گربه‌های بالاتر از ۵ سال با استفاده از کیت از نظر حضور آنتی ژن ویروس لوسمی دارای واکنش مثبت نبودند. با این حال در بررسی آماری مابین ۳ گروه سنی از نظر ابتلا به بیماری لوسمی ویروسی اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت (P fisher=1). در آزمایش خون یکی از گربه‌های دارای واکنش مثبت کم خونی از نوع غیر جبرانی (هماتوکریت = ۳۰ درصد، بدون حضور رتیکولوسیت) مورد تشخیص قرار گرفت و مابقی حیوانات از نظر کم خونی مشکلی نداشتند.

بحث

میزان شیوع عفونت لوسمی ویروسی در گربه‌های سالمی که به شکل آزاد امکان خروج از منزل را داشته باشند در سرتاسر جهان تقریباً مشابه و ۸-۱۰ درصد گزارش شده است. میزان شیوع در آمریکا در سال ۲۰۰۲ به میزان ۵/۳ درصد، در انگلستان ۵ درصد و در تایوان ۱/۳ درصد گزارش شده است (۷، ۱۰، ۱۱). در بررسی حاضر که برای اولین بار در آن میزان شیوع بیماری لوسمی ویروسی در گربه‌های سالم مورد مطالعه قرار گرفته است ۴/۸ درصد گربه‌ها با استفاده از کیت تجارتي الیزا از نظر حضور آنتی ژن دارای واکنش مثبت بودند. موارد مثبت همگی در جمعیت گربه‌های خانگی قرار داشتند و در هیچ یک از گربه‌های ولگرد مورد مطالعه در این تحقیق آنتی ژن ویروس مورد نظر مورد تشخیص قرار نگرفت. در بررسی‌های به عمل آمده میزان شیوع بیماری در گربه‌هایی که امکان خروج از منزل را داشته‌اند بیش از گربه‌هایی بوده است که در آپارتمان‌های بلند محبوس بوده‌اند. با این حال جمعیت گربه‌هایی که در خطر ابتلا به ویروس لوسمی قرار دارند با بیماری ویروسی نقص ایمنی متفاوت است. از آنجا که بیماری ویروسی نقص سیستم ایمنی به طور عمده از طریق گاز گرفتگی منتقل می‌شود،



References

1. Benveniste, R.E., Sherr, C.J., Todaro, G.J. (1975) Evolution of type C viral genes: origin of feline leukemia virus. *Sci.* 190:886-888.
2. Cotter, S.M. (1990) Feline viral neoplasia, In Greene CE (ed), *Infectious diseases of the dog and cat*, ed 1. WB Saunders, Philadelphia, USA. pp. 316 - 334.
3. Ettinger, S.J., Feldman, E.C. (2005) *Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat*. 6th Ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia, USA. pp. 653-659.
4. Hoover, E.A., Mullins, J.I. (1991) Feline leukemia virus infection and disease. *J. Am Vet. Med Assoc.* 199: 1287-1297.
5. Green, C.E. (2006) *Infectious diseases of the dog and cat*. 3rd Ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia, USA. pp. 105-131.
6. Hosie, M. J., Robertson, C., Jarrett, O. (1989) Prevalence of feline leukemia virus and antibodies to feline immunodeficiency virus in cats in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 125: 293-297.
7. Jacobson, R.H., Lopez, N.A. (1991) Comparative study of diagnostic testing for feline leukemia virus infection. *J. Am Vet. Med. Assoc.* 199: 1389-1391.
8. Keivanfar, H., Karimi, N. (1996) *Veterinary virology*, Tehran University Publications, Tehran, Iran. 324-334.
9. Lee, I.T., Levy, J.K., Gorman, S.P., Crawford, P.C., Slater, M.R. (2002) Prevalence of feline leukemia virus infection and serum antibodies against feline immunodeficiency virus in unowned free-roaming cats. *J. Am Vet. Med. Assoc.* 220: 620-622.
10. Lin, J.A., Cheng, M.C., Inoshima, Y., Tomonaga, K., Miyazawa, T., Tohya, Y., Toh, K., Lu, Y.S., Mikami, T. (1995) Seroepidemiological survey of feline retrovirus infections in cats in Taiwan in 1993 and 1994. *J. Vet. Med. Sci.* 57:161-163.

جدول ۱- توزیع فراوانی نتایج بررسی سرولوژیک بیماری لوسمی ویروسی در گربه‌های شهر تهران.

جمع	FeLV		گروه	سن (ماه)	جنس
	مثبت	منفی			
۲		۲	ولگرد	>۱۲	نر
۱۱	۲	۹	خانگی		
۱۳	۲	۱۱	مجموع		
۲۳		۲۳	ولگرد	۶۰-۱۲	
۱۱	۱	۱۰	خانگی		
۳۴	۱	۳۳	مجموع		
۲		۲	ولگرد	<۶۰	
۴		۴	خانگی		
۶		۶	مجموع		
۴		۴	ولگرد	>۱۲	
۱۵	۲	۱۳	خانگی		
۱۹	۲	۱۷	مجموع		
۱۸		۱۸	ولگرد	۶۰-۱۲	
۹		۹	خانگی		
۲۷		۲۷	مجموع		
۱		۱	ولگرد	<۶۰	
۳		۳	خانگی		
۴		۴	مجموع		
۱۰۳	۵	۹۸	جمع کل		

۲ هفته خواهد بود. بر همین اساس طبیعی بودن علائم بالینی (از نظر کم خونی) در حیوانات حامل آنتی ژن و وجود کم خونی تنها در یکی از گربه‌های تحت مطالعه قابل تفسیر خواهد بود.

میزان شیوع بیماری لوسمی ویروسی در کشورهای پیشرفته از اواسط ۱۹۸۰ به بعد در حال کاهش است که علت آن را بررسی‌های گسترده، شناسایی گربه‌های آلوده و جلوگیری از تماس آنها با حیوانات حساس می‌دانند. گرچه واکسیناسیون جمعیت حساس نیز ممکن است در کاهش شیوع این بیماری موثر باشد، با این حال خطرات ناشی از تزریق واکسن لوسمی از قبیل بروز سارکوم اهمیت شناسایی گربه‌های آلوده را بیشتر مشخص می‌نماید. لذا بر اساس نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر توصیه می‌شود کلیه گربه‌های ارجاعی به مراکز درمانی مخصوص حیوانات خانگی از نظر وجود آنتی ژن بیماری لوسمی ویروسی مورد آزمایش قرار گرفته و در صورت مثبت بودن نتایج از گربه‌های سالم جداسازی و در مراحل بعد با استفاده از آزمایش‌های تکمیلی سرنوشت ویروس و بیمار تحت کنترل قرار گیرد.



SEROEPIDEMIOLOGIC STUDY OF FELINE LEUKEMIA VIRUS IN STRAY AND DOMESTIC CATS OF TEHRAN

Jamshidi, Sh.^{1*}, Saedi, A.², Bokaie, S.³

¹Small Animal Internal Medicine Department, Veterinary Faculty, Tehran University.

²Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.

³Department of Food Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.

(Received 2 June 2007 , Accepted 27 February 2008)

Abstract:

Feline leukemia virus is a retrovirus of domestic cats that occurs throughout the world. Persistent infection in the animals and persistently infected cats are at risk for developing of fatal diseases such as: lymphoma, leukemia, haematopoietic malignancies and anemia. In this study as the first time in Iran the serologic prevalence of feline leukemia virus was determined with commercial ELISA method. Sampling was performed randomly from 103 domestic and stray cats. Positive serologic result was diagnosed in five cases (4.8%). All the positive cats belonged to domestic group. There wasn't any significant differences depend on sex or age, but most Positive cases were less than 3 years old. With respect to some difficulties in vaccination protocols against feline leukemia virus, detection of the infected animals and prevention of their contact with healthy cats is considered as best method in prevention of the disease.

Key words: Leukemia virus, serology, cat

*Corresponding author's email: shjamshidi@vetmed.ut.ac.ir, Tel:021-66427517, Fax:021- 66933222
09121038953

