



بیماری‌های ناشی از کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A در نشخوارکنندگان و طیور و واکسن‌های موجود

لیدا عبدالمحمدی خیابا^۱، رامین باقری‌نژاد^۱، سیما آزادمنش^۱
۱- محقق، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

* نویسنده مسئول: لیدا عبدالمحمدی خیابا L.mohammadi@rvsri.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۷

چکیده

بیماری‌های ناشی از کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A طیف وسیعی از حیوانات را درگیر نموده که اغلب بسیار سریع پیشرفت می‌کنند. این بیماری‌های مهلک خسارات قابل توجهی در صنعت دامداری و به خصوص صنعت طیور می‌گذارند. واکسیناسیون نقش بالقوه‌ای در پیشگیری از بیماری‌های کلستریدیایی ایفا می‌نماید. در حال حاضر موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی واکسن باکترین توکسوئیدی چهارگانه انتروتوکسمی را جهت پیشگیری از بیماری‌های کلستریدیایی تولید می‌کند که در دو نوبت به صورت سالانه به روش زیر جلدی به حیوانات هدف تزریق شود. علاوه بر واکسیناسیون منظم، مدیریت دامداری، شامل رعایت بهداشت محیط زندگی حیوانات و تغذیه سالم و معاینات دوره‌ای آن‌ها نقش مهمی در کاهش بیماری‌های کلستریدیایی دارند. هدف از این مطالعه روشن نمودن بیماری‌های کلستریدیایی در نشخوارکنندگان و طیور ناشی از کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A و واکسن‌های موجود در بازار ایران و نقش موسسه رازی در این راستا می‌باشد. توصیه می‌شود در زمینه تولید واکسن جهت ایمن‌سازی بر علیه کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A در طیور تحقیقاتی صورت گیرد.

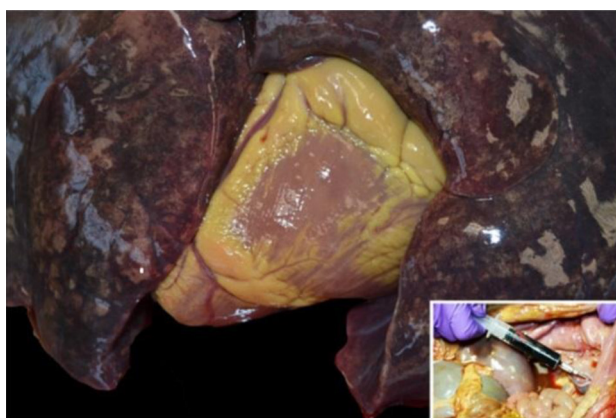
واژگان کلیدی

بیماری‌های کلستریدیایی، کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A، موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی، واکسیناسیون

بیان مساله و اهمیت موضوع

کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A عامل بیماری‌های متنوعی در طیف گسترده‌ای از موجودات می‌باشد که از جمله آن‌ها می‌توان به قانقاریای گازی و مسمومیت غذایی در انسان و انتروتوکسمی در نشخوارکنندگان (مانند گوسفندان و گاوها)، التهاب شیردان کلستریدیایی در گوساله، بره و بزغاله، زردی بره، انتریت کلستریدیایی در شترمرغ، گاستروانتریت هموراژیک در سگ و اسهال و مشکلات گوارشی در اسب اشاره نمود. قانقاریای گازی یک میوزیت نکروتیک است که در بافت‌های نکروزه، گاز تولید شده و به همین دلیل کریپتاسیون را به دنبال دارد و می‌تواند منتج به مرگ بافت عضلانی شود. مرحله بعد انتشار توکسین این باکتری در خون و ایجاد شوک است، که اغلب بسیار سریع اتفاق می‌افتد. زخم‌های سیاه و بزرگ قابل مشاهده خواهند بود. این بیماری کشنده و مهلک بوده که صدها هزار سرباز در اثر این عفونت شدید در جنگ جهانی اول جان خود را از دست دادند (۲). مسمومیت غذایی ناشی از کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A معمولاً با مصرف غذاهایی که به درستی پخته نشده و یا نگهداری در شرایط نامناسب ایجاد می‌شود. این باکتری در غذا تکثیر شده و توکسینی تولید می‌کند که باعث بروز بیماری و علائمی مانند اسهال و درد در ناحیه شکم می‌شود. البته قابل ذکر می‌باشد کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A که عامل مسمومیت غذایی در انسان است و انتروتوکسین تولید می‌کند به عنوان تیپ F شناخته می‌شوند. انتروتوکسمی یک بیماری گوارشی است که بیشتر در حیوانات به خصوص نشخوارکنندگان دیده می‌شود. این باکتری در دستگاه گوارش تکثیر شده و توکسینی تولید می‌نماید که

باعث آسیب به دستگاه گوارش و حتی مرگ، به خصوص در دام‌های پرواری می‌شود. در این بیماری، جذب توکسین‌های باکتریایی تولید شده در دستگاه گوارش و انتشار آن‌ها از طریق خون در بدن می‌تواند باعث آسیب بافتی و تخریب در ارگان‌های مختلف گردد. التهاب شیردان کلستریدیایی به صورت التهاب منتشر و حاد به صورت نفخ شدید شیردان و یا زخم‌های عمقی و سوراخ‌کننده شیردان دیده می‌شود. که عوامل متعددی در ایجاد آن نقش دارند. از جمله آن عوامل کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A می‌باشد که هم در حیوانات سالم و هم در حیوانات بیمار مشاهده می‌شود. در بیماری بره زرد، آلفا توکسین باعث همولیز و یرقان می‌شود که با علائمی نظیر بی‌حالی، کم‌خونی و زردی همراه است (تصویر شماره ۱-۳) (۳). انتریت کلس‌ترییدیایی در شترمرغ به دو فرم حاد و مزمن دیده می‌شود. توکسین‌های کلستریدیایی موجب التهاب شدید و تخریب پوشش در روده‌ها (آنتریت) شده که پس از جذب از جدار روده وارد جریان خون گشته و گاهی عامل فلجی موضعی و یا کلی در بدن و در نهایت مرگ می‌شود. همچنین کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A می‌تواند به روده طیور آسیب رسانده و باعث التهاب، تورم دیواره روده و ایجاد نقاط نکروتیک شود که باعث ایجاد علائمی نظیر اسهال، کاهش اشتها، کاهش وزن، رشد ناکافی و در نهایت تلفات می‌شود. با در نظر گرفتن ارزش اقتصادی شایان توجه دام و طیور و خسارات جبران ناپذیر به صنعت تولید و تلفات بالای بیماری‌های متنوع این باکتری در حیوانات، لزوم برنامه‌ریزی جهت کنترل، بیش از پیش نمایان می‌شود. واکسیناسیون یکی از مهم‌ترین استراتژی‌ها برای جلوگیری از بروز خسارات



تصویر شماره ۱- تغییر رنگ زرد چربی اپیکارد بره مبتلا به زردی. تصویر پایین: ادرار قرمز تیره در بره مبتلا به هموگلوبینوری. زردی منتشر در بافت‌های حفره شکمی و لگن (۴).



تصویر شماره ۲- تغییر رنگ منتشر از قرمز تیره تا قهوه‌ای در قشر و مدولای کلیه در بره مبتلا به هموگلوبینوری (۴).



تصویر شماره ۳- کبد زردرنگ و بزرگ‌شده در بره با زردی مشخص (۴).

دست‌آورد

مهم‌ترین اصل برای پیشگیری و مبارزه با این بیماری شناخت صحیح و به موقع بیماری و تعیین عامل مسبب آن است. تشخیص بیماری در دامداری براساس تظاهرات بالینی و علائم کالبدگشایی است. باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس باسیل گرم مثبت بیهوازی، غیرمتحرک، اسپور و کپسولدار است که در خاک و محتویات روده انسان و حیوانات زندگی می‌کند (۵). این باکتری بیش از ۲۰ نوع توکسین ترشح می‌نماید. ۶ توکسین اصلی شامل آلفا (CPA)، بتا (CPB)، اپسیلون (ETX)، یوتا (ITX)، انتروتوکسین (CPE) و NetB اساس طبقه‌بندی به تیپ‌های A تا G می‌باشند (۶) یکی از تیپ‌های مهم کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A

هنگفت در صنعت دامداری و طیور کشور است. در حال حاضر واکسن چهارگانه انتروتوکسمی تولید موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، جهت ایمن‌سازی حیوانات بر علیه بعضی از بیماری‌های فوق‌الذکر در ایران به کار برده می‌شود. اگر چه این واکسن فاقد کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A است ولی به توجه به وجود آلفا توکسین در کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ‌های B، C و D و اشتراکات آنتی‌ژنی آن با آلفا توکسین در سایر تیپ‌ها و نتایج خوبی که از ایمن‌سازی ناشی از تجویز واکسن گرفته شده، استفاده می‌شود. در ایران واکسن انتروتوکسمی به صورت باکترین - توکسوئید تولید می‌شود و به روش زیرجلدی سالانه دو بار به جمعیت هدف تجویز می‌گردد.

علیه کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A در ایران انجام شد ولی وارد مرحله تجاری نشده است. در ایران (موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی) سابقه تولید واکسن آنروتوکسمی به سال ۱۳۲۳ باز می‌گردد. این واکسن حاوی کشت فرمالینه کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ‌های B, C و D و کلستریدیوم سبتیکوم بوده است. در سال‌های بعد تولید واکسن علاوه بر مرکز در شعبه‌های مشهد کرمان و شیراز انجام شد و هم‌اکنون میزان تولید واکسن چهارگانه آنروتوکسمی در موسسه و شعب آن حدود ۷۰ میلیون دز در سال می‌باشد.

تاکنون تحقیقات زیادی در زمینه جداسازی و تشخیص کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A در ایران انجام شده است. در سال ۱۳۴۷ یکصد و ده مورد کلستریدیوم پرفرینجنس از نمونه‌های ماهی، گاو و گوسفند جداسازی شد که عمده موارد آن مربوط به کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A بود. در بررسی دیگری، از ۱۵۸ نمونه خاک جمع‌آوری شده از دامداری اطراف موسسه رازی در ۷۳ مورد کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A جداسازی شد که قابل توجه می‌باشد (۹). در چندین بررسی دیگر نیز کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A باکتری غالب جدا شده به خصوص از طیور در مناطق مختلف ایران بود (۱۰).

زنده یاد دکتر ارده‌الی، دکتر موسوی شوشتری، دکتر درخشان و دکتر دوران تحقیقات با ارزشی روی شناسایی کلستریدیوم‌های پاتوژنیک انجام دادند. عامل بیماری از نمونه‌های مرضی ارسالی از شهرستان‌های سراسر ایران شامل تهران، اصفهان، رشت، مشهد، شیراز، تبریز، یزد، همدان و کرمانشاه جداسازی و پس از تایید در آموپول‌های لیوفیلیزه در کلکسیون میکروبی بخش بیهواری نگهداری شدند. ابتدا واکسن آنروتوکسمی در ظروف شیشه‌ای ۲۰ لیتری تولید شد که نتایج آزمایشات آن نیز رضایت‌بخش بود. در سال‌های بعد به دلیل افزایش تقاضا حجم واکسن از ظروف شیشه‌ای ۲۰ لیتری به حجم فرمانتورهای صنعتی تغییر یافت.

از منظر پیشگیری، واکسن چهارگانه آنروتوکسمی یکی از واکسن‌های مهم دامپزشکی می‌باشد که سالانه دو بار به جمعیت دامی کشور، به خصوص گوسفند و بز تجویز می‌گردد. بخش تحقیق و تولید واکسن‌های بیهواری موسسه رازی از دهه‌های گذشته با تولید میلیون‌ها دز واکسن آنروتوکسمی نقش بسیار موثری در پیشگیری از این بیماری داشته است. تولید این واکسن در داخل کشور منجر به کاهش خسارات اقتصادی به صنعت دامپروری و جلوگیری از خروج ارز و وابستگی می‌شود. البته انجام مطالعات اپیدمیولوژیک در خصوص سوش‌های بومی کلستریدیایی جهت ارزیابی پتانسیل استفاده از آن‌ها در ساخت واکسن‌های موثرتر، تولید واکسن‌های تغلیظ شده و پلی‌والان کلستریدیایی توصیه می‌گردد.

بوده که همانطور که ذکر شد عامل بیماری‌زایی در انسان و حیوانات است. کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A آلفا توکسین را تولید می‌نماید که بین همه تیپ‌های این باکتری مشترک است. این توکسین یک لیسیتیناز یا فسفولیپاز C است که بر روی ترکیبات لیوپروتئینی واجد لیسیتین مانند سلول‌های پوششی عروق، فسفولیپیدهای گلبول‌های خونی و غشاء سلول میتوکندری تاثیر گذاشته و آن را به فسفاتیدیل کولین و دی‌گلیسرید می‌شکند. به دنبال تخریب سلول‌های پوششی عروق، تخریب بافت و خیز ایجاد می‌شود. نکروز بافت و تولید گاز، حاصل تکثیر باکتری است. این توکسین منجر به صدمات شدید کبدی، تخریب بافتی و خونریزی می‌گردد (۱). آلفا توکسین مهم‌ترین عامل حدت در عفونت‌های عضلانی است. همچنین در گزارش ون از بین عوامل مسمومیت‌زا این باکتری در آمریکا در رتبه سوم قرار دارد (۷). هر ساله صدها مورد مسمومیت ناشی از این توکسین در اروپا و آمریکا گزارش می‌شود (۸). البته این توکسین برخلاف توکسین‌های دیگر این جنس، در ایجاد بیماری‌های دستگاه گوارش اهمیت ناچیزی دارد (۳). آلفا توکسین پروتئینی با وزن ملکولی تقریباً ۴۲/۵ کیلوالتون دارای دو ناحیه -C-ترمینال و -N-ترمینال است. ناحیه -N-ترمینال با ۲۵۰ اسید آمینه خاصیت آنزیمی داشته و ناحیه -C-ترمینال با ۱۲۰ اسید آمینه در اتصال به گانگلیوزید سلول هدف نقش ایفا می‌کند. این توکسین توسط ژن cpa کد می‌شود که بر روی کروموزم قرار گرفته و تولید آن در کنترل سیستم سنجش حد نصاب است. میزان LD50 این توکسین ۳ میکروگرم در هر کیلوگرم (۰/۰۰۰۰۰۳) در هر گرم) در موش و حساس به تریپسین می‌باشد. بعضی سوبه‌های این باکتری تولید آنروتوکسین، بتا ۲ توکسین، NetB و NetF می‌کنند. این توکسین‌ها در بیماری‌زایی باکتری نقش دارند و برخی از آنها در تعیین تیپ باکتری نیز اهمیت دارند. همانطور که اشاره شد آنروتوکسین در ایجاد مسمومیت غذایی انسان و اسهال ناشی از مصرف آنتی بیوتیک نقش دارد. همچنین NetB در بیماری گوارشی انتریت نکروتیک در طیور و NetF در ایجاد گاستروانتریت همراژیک در سگ اهمیت دارند (۳).

تولید واکسن تجاری موجود جهت ایجاد ایمنی بر علیه بیماری‌های ناشی از کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A در جهان و ایران

در کشورهای مختلف واکسن‌های متنوعی بر علیه عفونت‌های کلستریدیایی تولید شده‌اند (جدول شماره ۱). بسیاری از واکسن‌های طراحی و تولید شده حاوی آلفا توکسوئید هستند که منجر به ایجاد ایمنی در حیوانات هدف می‌شود. برخی از آن‌ها به صورت تک‌گانه و برخی به صورت چندگانه هستند. همچنین تحقیقاتی در زمینه تولید واکسن نو ترکیب بر

جدول شماره ۱: برخی واکسن‌های تجاری موجود جهت ایجاد ایمنی بر علیه بیماری‌های ناشی از کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A.

نام واکسن	نام شرکت سازنده	نوع واکسن	اجزاء واکسن	نحوه مصرف	اجزاء واکسن
AVERT® NE	Huvepharma	زنده (مهندسی ژنتیک)	کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A و Net B	اسپری	جوجه
۱۰Covexin	MSD Animal Health	توکسوئید و واکسن کشته با پیکره باکتری	کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A-B-C-D کلستریدیوم شوای کلستریدیوم نوای تیپ B کلستریدیوم سیتیکوم کلستریدیوم تنانی کلستریدیوم سوردلی کلستریدیوم همولیتیکوم	تزریق زیر جلدی	گوسفند و گاو
Clostridium perfringens type A	Elanco	توکسوئید	کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A	تزریق زیر جلدی	گاو
SUISENG Diff/A	HIPRA	کشته	کلستریدیوم دیفسیل، کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A	تزریقی	خوک
VAC-SULES CLOSTRIDIAL H	Laboratorios Microsules	توکسوئید و واکسن کشته	کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A-B-C-D کلستریدیوم نوای تیپ B کلستریدیوم تنانی کلستریدیوم شوای کلستریدیوم همولیتیکوم	تزریق زیر جلدی	گاو، گوسفند و بز

Review2022. Animals (Basel). 2022;12(12):1590.

5. Songer JGJ. Clostridial enteric diseases of domestic animals. 1996;9(2):216-34.
6. Rood JI, Adams V, Lacey J, Lyras D, McClane BA, Melville SB, et al. Expansion of the Clostridium perfringens toxin-based typing scheme. 2018;53:5-10.
7. Wen Q, McClane BAJA, microbiology e. Detection of enterotoxigenic Clostridium perfringens type A isolates in American retail foods. 2004;70(5):2685-91.
8. Augustynowicz E, Gzyl A, Slusarczyk JJ. Detection of enterotoxigenic Clostridium perfringens with a duplex PCR. 2002;51(2):169-72.
9. Abdolmohammadi Khiav L, Paradise A, Pilehchian Langroudi R, Khaki P. Clostridial Vaccine for Veterinary Use in Iran: A Review. Microbiology Research Journal International. 2020;30(12):12-22.
10. Abdolmohammadi KhiaV L, Zahmatkesh A, Paradise A. Detection of Clostridium perfringens types through genetic profiling and mouse neutralisation test. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. 2023;26:381-9.

■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■

توصیه ترویجی

با توجه به پراکندگی کلوستریدیا در خاک و بدن حیوانات و ظرفیت اسپورزایی این باکتری، امکان ریشه‌کنی بیماری‌های ناشی از آن‌ها با چالش‌هایی روبروست. از سوی دیگر برای بیماری‌های ناشی از کلوستریدیوم‌ها در دام، درمان اختصاصی وجود ندارد. ایران کشوری وسیع با اقلیم‌ها و اکوسیستم‌های متنوع است که این موضوع می‌تواند از نظر استراتژی‌های مدیریت بیماری، چالش‌هایی ایجاد کند. در مناطق دوردست، دسترسی به مراقبت‌های دامپزشکی ممکن است محدود باشد، که شاید مانع تشخیص صحیح موارد بیماری شود. با توجه به میزان مرگ و میر بالای ناشی از بیماری‌های کلوستریدیایی به خصوص در دام‌های پروار پیشگیری از آن‌ها طبق برنامه واکسیناسیون منظم توصیه می‌گردد. امروزه واکسن‌های کشته باکتریایی (با نام واکسن‌های چندگانه باکترین-توکسوئیدی) و واکسن‌های چندگانه توکسوئیدی بیشترین حجم واکسن‌های توزیع شده را به خود اختصاص داده‌اند که قابلیت کنترل و پیشگیری از این بیماری‌ها را دارند. در حال حاضر موسسه رازی واکسن باکترین توکسوئیدی چهارگانه انتروتوکسمی را جهت پیشگیری از بیماری‌های کلوستریدیایی تولید می‌کند که در دو نوبت به صورت سالانه به روش زیر جلدی به حیوانات هدف تزریق می‌گردد. علاوه بر واکسیناسیون منظم توسط کارشناسان معرب دامپزشکی، مدیریت دامداری، شامل رعایت بهداشت محیط زندگی حیوانات و تغذیه سالم و معاینات دوره‌ای آن‌ها نقش مهمی در کاهش بیماری‌های کلوستریدیایی دارند. توصیه می‌شود تحقیقاتی در زمینه قابلیت تحریک آنتی‌بادی واکسن فعلی علیه توکسین آلفا انجام شود. همچنین در زمینه تولید اختصاصی واکسن در طیور جهت ایمن‌سازی بر علیه کلوستریدیوم پرفرینجنس تیپ A و کلوستریدیوم پرفرینجنس تیپ G تحقیقاتی صورت گیرد.

فهرست منابع

۱. فیروزی ر، حسنی طباطبایی ع. بیماری‌های باکتریایی دام: موسسه چاپ و انتشارات دانشگاه تهران؛ ۱۳۸۰.
2. Shimizu T, Ohtani K, Hirakawa H, Ohshima K, Yamashita A, Shiba T, et al. Complete genome sequence of Clostridium perfringens, an anaerobic flesh-eater. 2002;99(2):996-1001.
3. Uzal FA, Songer JG, Prescott JF, Popoff MR. Clostridial diseases of animals: John Wiley & Sons; 2016.
4. FA U, F G, J A. Yellow Lamb Disease (Clostridium perfringens Type A Enterotoxemia of Sheep): A