

طرح کاربردی نمونه دربیست و نهمین جشنواره پژوهش و فناوری دانشگاه تهران



عنوان طرح:

بررسی عفونت COVID-19 در گربه های اهلی (FELIS CATUS) دارای بدون علائم بالینی در شمالغرب ایران در سال ۱۳۹۹

نام و نام خانوادگی مجری اصلی: دکتر مهدی موبعلی

مرتبه علمی: استاد تمام

محل خدمت: دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی و مرکز تحقیقات انگل های بومی ایران وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تهران

مدرک تحصیلی	عنوان رشته	سال دریافت مدرک تحصیلی	محل دریافت مدرک تحصیلی
کارشناسی	-	-	-
کارشناسی ارشد	-	-	-
دکتری تخصصی	انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی	۱۳۷۰	دانشگاه علوم پزشکی تهران

توضیحات طرح:

در این مطالعه که برای نخستین مرتبه در ایران اجراء گردیده است، نشان داده شد گربه ها نسبت به عفونت با ویروس SARS-CoV-2 (عامل COVID-19 در انسان) حساسند و از طریق افراد مبتلا به کووید-۱۹ قادرند به این بیماری مبتلا شده (Reverse zoonosis) و باعث انتقال آن به سایر گربه ها و احتمالاً انسان شوند.

سازمان کارفرما: معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران (کد: 99-1-99-47971 و کد اخلاق:

IR.TUMS.VCR.REC.1399.303) و مرکز مدیریت بیماری های واگیر وزارت بهداشت، درمان، آموزش

پزشکی (304/1874) و پشتیبانی معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و انستیتو پاستور ایران

چکیده طرح:

اهمیت و ضرورت اجراء:

با توجه به تایید مواردی از بیماری کووید-۱۹ در مناطقی از شمالغرب ایران و با عنایت به جمعیت بالای گربه ها که براهتی در خانه های مبتلایان و مراکز درمانی رفت و آمد داشته اند، در این مطالعه از تعدادی از گربه با و یا بدون علائم بالینی خصوصاً علائم تنفسی نمونه برداری گردید و جهت تشخیص COVID-19 در آن ها، بر روی نمونه های جمع اوری شده آزمایش های اختصاصی مولکولی انجام شد تا وجود عفونت COVID-19 در این حیوانات مشخص گردیده و نقش احتمالی آن ها در انتقال ویروس مذکور تعیین گردد.

روش اجراء:

در این مطالعه که با کمک شبکه بهداشت و درمان شهرستان مشکین شهر از اوائل سال ۱۳۹۹ انجام گردید، تعداد ۸ روستای شهرستان مشکین شهر که طی چند ماه گذشته بیشترین مبتلایان به COVID-19 را داشتند،

انتخاب شده و سپس از ۱۲۴ قلاده گربه همراه و یا بدون علائم بالینی خصوصاً علائم تنفسی پس از پلاک گذاری، نمونه گیری انجام گردید. مشخصات و علایم ظاهری هریک از گربه های صید شد در فرم های جمع اوری اختصاصی برای هر گربه، ثبت گردید. قبل از تهیه نمونه، هر یک از گربه ها با استفاده از تزریق عضلانی داروهای کتامین و اسپرومازین با نسبت ۷۰ به ۳۰ آرام شده و بلافاصله با استفاده از سواب استریل داکرون از ناحیه نازوفارنکس و اروفارنکس آنها نمونه برداری و به محیط VTM انتقال یافته و در زمانی کمتر از ۱۰ ساعت پس از نمونه برداری و در دمای ۴ درجه سانتی گراد به آزمایشگاه رفرانس تشخیص کرونا ویروس تبریز وابسته به معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز انتقال داده شدند. گربه ها در قفس های مخصوص به ازاء هر کانون و مکان صید تا دریافت نتایج از آزمایشگاه، نگهداری می شدند تا در صورت مثبت بودن اقدامات بعدی بر روی آنها انجام شود.

در آزمایشگاه رفرانس کرونا ویروس تبریز، استخراج نمونه ها با استفاده از کیت های انستیتو پاستور ایران، پس از آماده سازی و استخراج RNA ویروس از محیط های VTM، انجام Real-time PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تهیه شده از ژن E جهت شناسایی ویروس COVID-19 مطابق دستورالعمل کشوری برای آزمایش نمونه های انسانی، اقدام گردید.

نتایج نمونه ها با CT تا ۳۵ مثبت تلقی می گردید. نتایج نمونه ها با CT از ۳۶ تا ۴۰ مشکوک بوده و مجدداً نمونه گیری بعمل آمده و آزمایش مذکور تکرار می گردید و نتایج نمونه ها با CT بالاتر از ۴۰ منفی در نظر گرفته می شدند.

متعاقباً نیز جهت تایید قطعی تشخیص از پرایمرهای اختصاصی ویروس SARS-COV-2 طراحی شده از ژن های ORF1 و N استفاده شد و محصول حاصله با استفاده از ژن S سکانس شدند.

نتایج :

نتایج این مطالعه شامل دو قسمت به شرح زیر ارائه می گردند:

قسمت اول: میزان عفونت COVID-19 در گربه های جمع اوری شده از بیمارستان ولیعصر مشکین شهر و منازل

افراد مبتلا به کووید ۱۹ بستری و یا قرنطینه :

در این قسمت تعداد ۱۲۴ قلاده گربه که به شکل مداوم به اماکن فوق الذکر تردد داشتند، جمع اوری شدند. از این تعداد ۶۸ قلاده گربه (۵۴/۸ درصد) نو ۵۶ قلاده گربه (۴۵/۲ درصد) ماده بودند و میانگین سنی آنها ۱۵/۲ ماه با حداقل سن ۱۵ روز و حداکثر ۴۸ ماه (۴ سال) بوده است. در مجموع ۷ قلاده گربه از بیمارستان ولیعصر مشکین شهر و ۱۱۷ قلاده گربه باقیمانده از روستاهای این شهرستان جمع اوری شدند. از تعداد ۱۲۴ قلاده گربه های جمع اوری شده ۹۴ قلاده فاقد هرگونه علائم بالینی بوده (۷۵/۸ درصد) و ۳۰ قلاده باقیمانده (۲۴/۲ درصد) دارای علائم بالینی شامل علائم تنفسی (تعداد: ۷)، علائم پوستی (تعداد: ۹)، علائم چشمی (تعداد: ۳)؛ ضعف و بیحالی (تعداد: ۲) و لاغری مفرط (تعداد: ۹) بودند. نتایج CT در ۱۲۳ گربه صید شده بالای ۴۰ گزارش گردید و لذا همگی از نظر COVID-19 دارای نتایج منفی بوده اند و تنها در یک قلاده گربه از روستای آئی با CTE= ۲۳ از نظر COVID-19 مثبت تشخیص داده شد. گربه مذکور دارای علائم بالینی شامل علائم تنفسی (سرفه، خس

خس، سرفه، دیس پنه و آبریزش از بینی) و علائم گوارشی (اسهال و استفراغ) بوده و به شدت لاغر و ضعیف بود. لازم به ذکر است گربه مذکور دست آموز بوده و صاحب آن نیز ۲ هفته قبل به کووید ۱۹ مبتلا شده و نتیجه آزمایش RT-PCR آن مثبت بوده است. لازم به ذکر است جهت تایید تشخیص از پرایمرهای طراحی شده از ژن های N و ORF1 استفاده شده که $CTN=30$ و $CTORF1=32$ تعیین گردید و بر اساس سکانس ژن S عامل بیماری SARS-COV-2 (Clade D) تعیین گردید.

قسمت دوم: انتقال عفونت طبیعی COVID-19 از گربه مثبت به گربه هایی که از نظر COVID-19 منفی بودند:

گربه مذکور تا زمان دریافت نتایج RT-PCR در محلی که ۳ قلاده گربه در حال قرنطینه در آن نگهداری و مربوط به همان روستا بوده اند و نتایج RT-PCR اولیه آنها نیز متعاقباً منفی گزارش شد، قرار داده شد. بعد از گذشت یک هفته گربه های مذکور همگی دچار علائم تنفسی شامل (سرفه، خس، سرفه، دیس پنه و آبریزش از بینی) شدند و پس از نمونه گیری و ارسال جهت انجام آزمایش RT-PCR نتایج هر سه گربه به ترتیب دارای $CTE=24$ و $26,26$ یعنی نتایج آنها از منفی به مثبت تغییر یافتند. جهت تایید تشخیص با استفاده از پرایمرهای طراحی شده از ژن های N و ORF1 که نتایج حاصله به ترتیب $CTN=15$ و $15,25$ ، و $17,26$ و 18 $CTORF1=$ تعیین گردید و بر اساس سکانس ژن S عامل بیماری SARS-COV-2 (Clade D) تعیین گردید.

یکی از سه گربه مبتلا حدود ۷۲ ساعت پس از ظهور علائم بالینی مرد و ۲ گربه باقیمانده به همراه گربه اولیه، کالبد گشائی شده و ریه و قلب آن ها جهت بررسی ضایعات پاتولوژی به دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ارسال گردیدند. در ضایعات پاتولوژیک گربه های مذکور ضایعات فراوانی از قبیل هیپرپلازی و هیپرتروفی گابلت سل ها همراه ترشحات فراوان، آمفیژم و آتلکتازی شدید؛ هیپرانوزینوفیلی و برونشیت کاتاران و در قلب نیز ترومبوز به همراه اندوکاردیت نکروزان تشخیص داده شدند.

نتیجه گیری :

گربه ها نسبت به ویروس SARS-CoV-2 (عامل کووید-۱۹) حساسند و قادرند به طور طبیعی به آن مبتلا شده و باعث انتقال این ویروس به سایر گربه ها و احتمالاً انسان شوند. تماس نزدیک گربه با انسان و سایر گربه ها نقش مهم و تعیین کننده ای در این انتقال خواهد داشت.

همکارانی که در انجام این مطالعه نقش اساسی داشته اند:

۱. دکتر ذبیح الله زارعی، دکتر محمدمهدی گویا، دکتر غلامرضا حسن پور، دکتر محمدزینلی، دکتر سیمین خیاط زاده، دکتر مهدی پارسائی، دکتر نازیلا سرافراز، آقای مهدی حسن زاده، دکتر بهزاد امیری، دکتر محمدرضا شیرزادی، دکتر مصطفی صالح وزیری، آقای امراله آرم، دکتر فرهنگ ساسانی، دکتر چیمین کرمی و دکتر زهرا حیدری
