

الإنذار المبكر

انتشرت أنفلونزا الطيور في 51 بلداً - 36 بلداً منها في هذا العام فقط - والكثير من هذه البلاد ذو كثافة سكانية كبيرة ويعاني من الحرمان.

هل يمكن للتقانات النووية أن تساعد في الكشف عن مثل هذه الأمراض المعدية؟

تُمثل الأمراض الحيوانية المعدية بشكل كبير تهديدات عابرة للحدود وتشير قلقاً متنامياً.

تتضمن مثل هذه الأمراض داء القدم والغم وحمل الخنازير وطاعون الماشية - والأنفلونزا الطيرية المسببة للمرض بشكل كبير أو أنفلونزا الطيور التي يُنشر عنها الكثير من المقالات. إن هذه الأمراض - التي يسميها الخبراء: "الأمراض الحيوانية العابرة للحدود TADs" - تظهر ويتكرر ظهورها بانتظام في جميع أنحاء العالم. وهي تسبب خسائر تبلغ بلايين الدولارات وتشكل خطراً على صحة وحياة وموارد الرزق لملايين من عائلات المزارعين الفقراء وجيرانهم.

ففي غضون الأشهر الثمانية عشر الأخيرة فقط، أوردت تقارير المنظمة الدولية للصحة الحيوانية OIE أعداداً ضخمة عن تفشي الأمراض الحيوانية العابرة للحدود في عدة قارات - مرض القدم والغم في أفريقيا وآسيا وأمريكا الجنوبية وحمل الخنازير التقليدية في أفريقيا وآسيا وأوروبا وطاعون الماشية في أفريقيا وآسيا. ومؤخراً، جرت تغطية إعلامية مكثفة للعامل الأثوى المسبب لأنفلونزا الطيور H5N1 الذي تسبب في تفشٍ حاد لهذا المرض في آسيا وأفريقيا وأوروبا. فقد أصاب هذا المرض الكثير من الطيور والحيوانات وأصاب البشر بالإعياء ومات الملايين.

هذا، وينبغي النظر إلى كلفة تفشي هذا المرض الحيواني العابر للحدود من وجهتين: أولاً من خلال الجهود اللازمة لوضع هذا المرض تحت السيطرة وثانياً من خلال الخسائر في الأرزاق التي تنتج عن ذلك. فعلى سبيل المثال، قُدِّرت قيمة النفقات الناتجة عن تفشي مرض القدم والغم في المملكة المتحدة في العام 2001 بما يزيد عن 4.5 بليون يورو للقطاع العام وبما يزيد عن 7.6 بليون يورو للقطاع الخاص. وتُعتبر المشكلة الأخلاقية الناتجة عن استراتيجية الإبادة والتباعد الاجتماعية التي تنتج عن ذبح أعداد كبيرة من الحيوانات بمثابة جزء فقط من النفقات غير الظاهرة التي يجب أخذها بعين الاعتبار عند تقدير تأثيرات هذه الأمراض المهددة.

واليوم، يتكاتف مزيد من المنظمات والخبراء لمنع تفشي الأمراض الحيوانية العابرة للحدود ومكافحتها. وتشمل هذه المنظمات مراكز خدمات صحية بيطرية ومعاهد بحوث ومنظمات دولية، بما في ذلك الوكالة الدولية للطاقة الذرية ومنظمة الأغذية والزراعة التي تتولى إدارة قسم مشترك في مدينة فيينا بالنمسا. ويعمل البرنامج المشترك لمنظمة الأغذية والزراعة (FAO) والوكالة الدولية للطاقة الذرية (IAEA) من أجل الكشف السريع عن الأمراض الناشئة، بما في ذلك أنفلونزا الطيور وذلك باستخدام تقنيات نووية وإشعاعية في خدمة هذه العملية.

صحيح أن المشاكل خطيرة وتشكل تحدياً، ولكن يمكن للتقانات النووية أن تقدّم الحل.

فبالنسبة لمعظم الدول النامية، يُعتبر الكشف عن الأمراض الحيوانية العابرة للحدود أمراً حيوياً. ويتمثل عنق الزجاجة بعدم قدرتهم على الكشف بسرعة عن الفيروس وعدم قدرتهم على التحديد بشكل مبكر وكاف، ما إذا كان هذا الفيروس هو H5N1 أم نمط فرعي آخر له، بحيث تستطيع السلطات اتخاذ إجراءات مناسبة للتحكم به. وتتركز جهود جديّة على الكشف المبكر لهذه العوامل المُمرضة الفيروسية في الوقت المناسب الأمر الذي يمكن أن يمنع انتشار الأمراض في جماعات حيوانية كبيرة وفي مناطق جغرافية واسعة. لذلك يُعتبر تطوير فحوص نووية تشخيصية جديدة قوية ومُستحدثة أو ذات صلة بالمجال النووي قضية حاسمة في الوقت الحالي بالنسبة للبحوث البيطرية والرعاية الصحية الحيوانية.

هذا، ويقدم علم الفيروسات الجزيئية تشكيلة من الطرائق الحديثة التي يمكنها تسريع تشخيص الأمراض المعدية لدى الحيوانات والبشر وتحسينه. وتقدّم فحوص الكشف الجزيئية، مثل التفاعل التسلسلي البوليميرازي (PCR)، إمكانيات لإجراء تشخيص سريع جداً. إذ يُستطاع إتمام الكشف عن الفيروسات خلال ساعات أو حتى خلال دقائق حسبما هو مأمول وبمستوى من الحساسية يُقدَّر بأقل من مُتعضٍّ واحد مسببٍ للمرض.

وقد ساهمت المقاربات الجزيئية بشكل مهم بالكشف السريع عن عوامل العدوى المعروفة والناشئة حديثاً على حد سواء، مثل فيروسات نيبا Nipah وهيندرا Hendra أو فيروسات كورونا Corona في سيناريو سارس SARS، وفي الكشف عن النمط الفرعي من الأنفلونزا الطيرية المسببة للمرض بشكل كبير H5N1 والتي تُهدد العالم حالياً، وكذلك في توصيف خصائصها الجزيئية. وقد أصبح إجراء فحوص تضخيم الحمض النووي رخيصاً بشكل نسبي وغدت هذه الفحوص أدوات سهلة الاستخدام في مخابر التشخيص، رغم أنها كانت في البداية باهظة الكلفة ومرهقة.

ففي السويد، تمّ في العام 1987 اعتماد المقاييس assays الأولى للتفاعل التسلسلي البوليميرازي (PCR)، أي بعد سنتين فقط من الوصف الأول لمبدأ هذا التفاعل. وفي العقدين الأخيرين، جرى تطوير أكثر من 50 مقياس PCR وأصبحت هذه المقاييس ضمن الاستخدام الروتيني في مختبرات التشخيص.

فعند فحص الانتماء الجيني للفيروسات المختلفة، ليس الهدف من ذلك تحقيق كشفٍ واسع المجال، بل الحصول على الميزّ النسوي أو

للمختبر المعتمد ويحدد بارامترات مهمة كثيرة. وقد نشرت المنظمة الدولية للصحة الحيوانية OIE في العام 2000 معياراً لتوثيق مصدوقية المقاييس التشخيصية في المجال البيطري.

ما هي السرعة التي يمكننا من خلالها أن نُحدِّد ونُميِّز فيروساً مُمرضاً ما مثل أنفلونزا الطيور؟

باستخدام الطرق الجزيئية نحتاج ليوم أو يومين - وذلك أسرع بكثير من الأساليب التقليدية. وفي السويد، تمَّ تطوير مقاييس PCR في الزمن الصحيح ذات خطوة واحدة من أجل الكشف عن طيف واسع من فيروسات الأنفلونزا بسرعة وبشكل فوري، بما في ذلك تلك الفيروسات العالية الإمراضية لأنفلونزا الطيور.

ويمكن للتحديد والكشف السريع أن يكون بمثابة وسيلة للإنذار المبكر، وهذه حاجة ملحة خصوصاً للدول النامية. فالكشف الفوري عن الأنماط الفرعية المختلفة من أنفلونزا الطيور يسمح للسلطات بأن ترصد وجود سلالات من أنفلونزا الطيور لدى الطيور البرية في الدواجن الحقلية وصنف الثدييات. ويؤمِّن هذا الأسلوب وسيلة جزيئية سريعة جداً ويمكن الاعتماد عليها بشكل كبير من أجل تشخيص أحد أسوأ أمراض الحيوانات التي تتجاوز الحدود في العالم.

يعمل ساندور بيلاك في دائرة البحث والتطوير المشترك في قسم علم الفيروسات في الجامعة السويدية للعلوم الزراعية (SLU) وفي المعهد البيطري الوطني (SVA) في مدينة أوبسالا في السويد.
البريد الإلكتروني: sandor.belak@sva.se

خلفية أنفلونزا الطيور

من الناحية التقنية، تُعرف الأنفلونزا الطيرية أو "أنفلونزا الطيور" بأرقام وحروف - مثل HPAI من النمط الفرعي H5N1.

لقد بدأ تفشي أنفلونزا الطيور الحالي في آسيا في العام 2004 ويتسبب بها فيروس من النمط الفرعي H5. وبالإضافة إلى ذلك، تمَّ توصيف الفيروس على أنه من النمط الفرعي N1 - الأمر الذي يُعتبر اكتشافاً مهماً كشف على أن هذه الأنفلونزا يمكن أن تكون مميتة للبشر.

أما HPAI فيسببها الإصابة الحيوانية ببعض ذراري فيروس الأنفلونزا A. وتُصنّف هذه الذراري في أنماط فرعية على أساس بروتينيهما الخارجيين اللذين يحملان الإسمين: (هيماغلوطينين-H) (H) و (نورامينيداز-N) (N) neuraminidase. وأما كيف يتم تحديد الفيروس وكشفه؟ ففي العادة، يتم ذلك بأخذ عينة مسببة للمرض، حيث يجري أولاً عزل الفيروس في أجنة بيض دجاجة. وهذا يستغرق من 4 إلى 7 أيام. ويجب بعد ذلك تحديد النمط الفرعي من الفيروس المعزول بواسطة مجموعة من أصداد نوعية يتم ترتيبها ضد البروتينين H و N المختلفين.

ولا يمكن إجراء التحديد إلا في مختبرات متخصصة. ومن أجل تأكيد قدرة النمط الفرعي على تسبب المرض يجب حقن الفيروس المعزول (المركب المعزول) لاحقاً داخل دجاجات ذات أعمار 4 إلى 8 أسابيع وسريعة التأثر بالفيروس. وتُعتبر الذراري مسببة للمرض بشكل كبير فيما لو سببت نسبة وفيات تفوق 75% من الدجاج المحقون بها في غضون 10 أيام.

والمشكلة الكبيرة هنا هي أن إجراءات الكشف المتوافرة حالياً تستغرق وقتاً طويلاً. لكن لحسن الحظ، بدأت تظهر الآن طرائق أكثر سرعة وذلك بدعم من الوكالة الدولية للطاقة الذرية ومنظمة الغذاء والزراعة والمعاهد ومنظمات أخرى.

السمة المميزة لسلالة فيروس معين أو عزله. ولهذا يتم استهداف المواقع الجينومية المتغيرة للفيروسات، وتبين هذه المواقع المتغيرة اتجاه تطور الفيروس، وغالباً ما يدل هذا الاتجاه على أصل الإصابة الأصلية. كما تُستخدم مقاييسات PCR النشوئية السلالية من أجل تصنيف فيروسات الهوام pestiviruses الوبائية، بما في ذلك فيروس حمى الخنازير التقليدية وفيروس الإسهال البقري الفيروسي ومن أجل تصنيف المستفردات isolates المُرضة (مثل H5N1 كحالة راهنة).

تُعتبر مقاييسات PCR ذات الميز النشوئي السلالي أدوات مفيدة للتحديد السريع للضروب variants المختلفة المتنوعة من الفيروس. فالتحديد الجيني يكون في غاية الدقة والسرعة (بضعة أيام أو ساعات). ويمكن تتبع انتشار الضروب المختلفة من الفيروس وإيقاف ذلك بسرعة لمنع انتشار الفيروس في مساحات جغرافية واسعة.

هذا، ويُطلق على التحديد السريع للنشوء السلالي للفيروسات وتتبعها مصطلح "علم السوفيات" epizootiology الجزيئي. فعلى سبيل المثال، كانت تتم هذه الدراسات عندما كانت تُحدِّد الضروب الجينية لحمى الخنازير التقليدية في بضع دول من وسط أوروبا وعندما حدث افتراض أن الأنماط الجينية الأوروبية والأمريكية لفيروس أعراض متلازمة التنفس والتناسل لدى الخنازير قد نشأت من سلف مشترك ما موجود في أوروبا الشرقية.

تُقدِّم مقاييسات PCR في الزمن الصحيح وسيلة سريعة ومبتكرة للكشف عن الفيروس. ويمكن إضافة إلى ذلك أتمتة العمل التشخيصي باستخدام تقنيات الروبوت لاستخلاص الحمض النووي وتنبيهه. وبالمقارنة مع مقاييسات التضخيم السابقة، فإن مقاييسات الزمن الصحيح لتفاعل PCR تتصف بميزة إضافية: إذ تسمح بإجراء تفاعل (PCR) كمي، مما يسمح بإجراء تقدير للحمل الفيروسي viral load (كمية الفيروسات في الدم). فالجانب الكمي مهم عندما يكون محتملاً أن الفيروس الموجود بشكل شائع في الحيوانات قد يسبب أعراضاً تتعلق بالحمولة الفيروسية، مثل الفيروسات المكلّلة السنورية وفيروس الخنازير الحلقي 2. ويكون قياس الحمولة الفيروسية مهماً أيضاً عند تقييم تأثيرات المعالجات المضادة للفيروس، خصوصاً في علم الفيروسات البشرية.

وللتأكد من مصداقية مقاييسات PCR التشخيصية يكون من المهم أن يتم دمج الضوابط الداخلية. وعن طريق تضمين تحكّم ذاتي كهذا مع حامل فلورته المبلغ النوعي الخاص به، نحصل على معلومات عن جودة العينة وعن أخطاء التنبيب. وبشكل متزامن، تبدي هذه المنظومة التضخيم المتحقق في تاليات النكلوتيد المستهدفة وتؤمن سلامة التشخيص.

واليوم، تطلب السلطات الوطنية والدولية دليلاً حاسماً على أن مقاييسات التشخيص على قدرٍ من المصداقية ما أمكن ذلك. وتبذل الوكالات الدولية، مثل المنظمة الدولية للصحة الحيوانية OIE ومنظمة الغذاء والزراعة FAO/الوكالة الدولية للطاقة الذرية IAEA ومؤسسات البحوث الوطنية والشركات التجارية، جهوداً ضخمة للتوصل إلى اتفاق على نظام دولي للتقييس standardization.

ونظراً لهذه المتطلبات فقد بدأت مختبرات التشخيص بتوثيق المصدوقية والتقييس الروتيني لمقاييسات (PCR) التشخيصية. فعلى سبيل المثال، يعطي المعيار EN ISO/IEC 17025:2000 توجيهات