

# مجله دانشکده پزشکی تهران

شماره نهم از سال بیست و پنجم

خرداد ماه ۱۳۴۷

## جذب ویروسها توسط گیاهان و اهمیت آن در همه گیری شناسی بعضی از بیماریهای ویروسی

دکتر فرج الله شفا \* دکتر خسرو فرهی \*\* دکتر فخر السادات محمدزاده کیانی \*\*

پس از آنکه ویروسی بودن بیماری فلج اطفال در پانزدهم نوامبر سال ۱۹۰۹ بوسیله لاندشتینر (Landsteiner) و پوپر (Popper) (۱) ثابت شد در کشورهای مختلف پژوهندگان متعددی توجه خود را باین مسئله معطوف و در حدود امکانات فنی روز تحقیقات زیادی در خصوص خواص عامل مولد بیماری و راههای انتشار و سرایت آن شروع کردند. دیری نگذشت که وجود ویروس در ترشحات بینی و گلوی مبتلایان بشوت رسید و مجاری تنفسی راه ورود ویروس بدن اعلام گردید. دو سال بعد پیترسن (Pettersen) و همکارانش (۲) سوپانسیون مدفوع بیماران مبتلا به پلیومیلیت را صاف کرده حاصل پالایش را به میمونهای حساس

\* استاد و رئیس آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه تهران .

\*\* استاد یاران بخش میکروب شناسی .

تلقیح نمودند و آنها را مبتلا ساختند. بسدین وسیله ثابت شد که عامل مولد بیماری بمقدار زیاد در مدفوع وجود دارد.

این تجربه توسط کارشناسان دیگری تکرار و تأیید شد (۳-۴-۵-۶).

تکمیل شدن روشهای کشت سلولی و استفاده از آن در ویروس شناسی بجای میمون به اپیدمیولوژیستها امکان داد که در مدفوع اشخاص سالم نیز به جستجوی ویروس بپردازند بدین ترتیب معلوم شد که در حدود ۸ تا ۱۰ درصد افراد کاملاً ندرست که هیچگونه تماسی با اشخاص مبتلا پلیومیلیت نداشته اند و ۵۸ درصد افراد سالمی که با بیماران مبتلا به پلیومیلیت تماس داشته اند در دستگاه گوارش خود حامل ویروس پلیومیلیت بوده و ممکن است ماهها آنرا دفع نمایند (۷-۸-۹-۱۰).

Lépine و همکارانش (۱۱-۱۲) به کودک سالمی برخورد کردند که حامل ویروس ویرولان پلیو در مدفوع خود بود و تا چهار ماه تلقیح فیلترای مدفوعش به میمون، جانور را به پلیومیلیت مبتلا می ساخت.

پس از کشف ویروسهای کوکساکسی، اکو، آدنو ویروسها و رتو ویروسها ادامه تحقیقات اپیدمیولوژیک دائر بر جستجوی ویروسهای اخیر در مدفوع افراد سالم و بیمار تعدد ناقلان سالم این ویروسها را نیز در اجتماعات انسانی باثبات رسانید و نیز معلوم گردید که آنترو ویروسها بخصوص ویروس پلیو در محیطهای طبیعی مقاومت زیادی دارند و میتوانند ماهها در آبهای مشروب، فاضل آبها، چاههای مستراح، اغذیه و بدن حشرات مدفوع خوار (کو پروفاژ) زنده بمانند و سبب آلودگی محیط زندگی انسان و خود او شوند (۱۳-۱۴-۱۵-۱۶).

کشف ویروس پلیومیلیت و بطور کلی آنترو ویروسها در مدفوع بیماران و افراد سالم و پی بردن بمقاومت زیاد آنها در طبیعت از این نظر حائز اهمیت میباشد که به پیشرفت و تکامل اطلاعات ما در خصوص اپیدمیولوژی بیماریهای ناشی از آنترو ویروسها کمک مؤثری کرده است. از تحقیقات و تجربیات فوق الذکر چنین نتیجه گرفته شد که این دسته از ویروسها معمولاً با غذاهائی که بوسیله ناقلان سالم آلوده شده است و همچنین آب آشامیدنی، از راه دستگاه گوارش انسان را مبتلا میسازند و انتقال ویروسهای مذکور از طریق تنفس هوای آلوده کمتر اتفاق میافتد.

تحقیقات زیادی برای اثبات وجود آنترو ویروسها (پلیو- کوکساکسی- اکو) و حتی آدنو ویروسها و رتو ویروسها در فاضل آبها، آب رودخانهها، در باچهها، اغذیه

و حتی آبهای آشامیدنی تصفیه شده بعمل آمده است (۱۷-۱۸-۱۹) و با دادن نتیجه مثبت نقش آنها را در آلوده کردن انسان بثبوت رسانده است .

گرچه بعضی از کارشناسان در نوشته های خود بامکان انتقال آنزیم ویروسها و حتی ویروس هپاتیت عفونی توسط میوه ها و سبزیهاییکه با آبهای آلوده بویروس آبیاری شده باشند اشاره کرده اند (۲۰) ولی مدارکی که متکی به تحقیقات تجربی باشد در این خصوص ارائه نشده است .

با توجه باینکه کشاورزان و بخصوص سبزیکاران کشور ما و اغلب کشورهای آسیائی و آفریقائی از مدفوع انسان بعنوان کود استفاده میکنند و در این قبیل کودهای طبیعی بدون شك ویروسهای پلیومیلیت ، کوکساکسی ، اکو ، هپاتیت عفونی ، آدنو-ویروسها و رتروویروسها بمقدار زیاد وجود دارد و با در نظر گرفتن این نکته که ویروسهای مزبور در محیط های طبیعی مقاومت زیادی دارند و علم باینکه مردم ایران سبزیهای خام زیاد مصرف میکنند بنظر ما نقش سبزیهای خوردنی در اپیدمیولوژی بیماریهای ویروسی که عامل مولد آنها با مدفوع در محیط خارج منتشر میشوند خیلی بیشتر از آن است که اپیدمیولوژیست ها یاد آور شده اند .

برای تحقیق در مورد صحت یا کذب این نظریه بتجرباتی چند مبادرت شده است که ذیلا نحوه انجام و نتایج آنها از نظر خوانندگان میگردد .

نخستین سؤالی که بنظر میرسد این است که آیا ویروسهای حیوانی میتوانند توسط ریشه گیاهان جذب و با جریان شیره خام بساقه و برگ و میوه برسند یا نه؟ برای روشن ساختن این مسئله لازم است گیاهانی را در آزمایشگاه پرورش داد و سپس ویروسی را در مجاورت ریشه نباتات مزبور قرار داده بعد از گذشت مدتی ، در ساقه و برگ بجستجوی همان ویروس اقدام نمود . بنابراین مراحل اصلی آزمایشها بترتیب عبارتند از:

۱- پرورش گیاه .

۲- تهیه سوسپانسیون ویروسی و تعیین عیار آن در روی کشت سلول .

۳- وارد کردن ویروس بمحیطی که ریشه در آن قرار دارد و جستجوی آن در ساقه و برگ از طریق تلقیح عصارة آنها بکشت سلول .

## مواد و روشها

۱- پرورش گیاه در آزمایشگاه - تعدادی از دانه‌های سالم نخود معمولی (*Cicer sp.*)، نخودفرنگی (*Pisum sativum*)، لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) و عدس (*Lens ervum*) را بین چند لایه گاز در کریستالیزوار قرار داده در حرارت معمولی آزمایشگاه هر روز با افزودن آب مقطر پارچه مرطوب نگاهداشته شد. یک هفته بعد که گیاهک با استفاده از ذخایر دانه نمو نموده و نباتی واجد ساقه، ریشه‌های اصلی و فرعی تبدیل گردید از هر گونه این گیاهان نورسته ۵ عدد انتخاب و ریشه آنها در محلول غذایی مصنوعی که در شیشه‌های دهانه تنگ قهوه‌ای ریخته شده بود فرو برده شد و همه برای استفاده از اشعه مستقیم خورشید پشت پنجره قرار گرفتند.

بتناسب اینکه گیاه رشد میکند مقدار آبی که بر اثر تعرق از دست می‌دهد افزایش یافته در نتیجه سطح مایع غذایی در شیشه‌ها پائین می‌رود که باید با افزودن محیط غذایی تازه جبران گردد.

در صورتیکه لازم باشد مدت زیادی گیاه در محیط غذایی مایع بماند بهتر است برای جلوگیری از احتمال غلیظ شدن مایع غذایی هر هفته یکبار محیط غذایی مایع که ریشه در آن قرار دارد تماماً با محیط تازه جایگزین گردد.

محلول غذایی که در این آزمایشها برای پرورش گیاهان سبز مورد استفاده قرار گرفت همان محیط غذایی نوپ می‌باشد که در املاح متشکله آن از نظر کمیت تغییراتی داده شده و بطریق زیر تهیه می‌گردد:

از محلولهای مولر ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )، ( $\text{KNO}_3$ )، ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) و ( $\text{Mg SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) که جداگانه تهیه شده‌اند بترتیب ۱، ۵، ۲۰۵ سانتی‌متر مکعب به ۹۸۷ میلی لیتر آب اضافه میشود و بدین ترتیب یک لیتر مایع غذایی مناسب جهت پرورش گیاهان کلروفیل دار بدست می‌آید که احتیاجات غذایی گیاه را تا زمان گل دادن تأمین میکند. در مرحله بگل نشستن نبات افزودن تارتات آهن بنسبت یک در هزار به محیط غذایی گیاه ضروری است.

۲- تهیه سوسپانسیون ویروسها نیکه در این آزمایشها مورد استفاده قرار گرفته‌اند و ویروسهای پلیومیلیت، کوکساکسی B<sub>5</sub>، اکو 2، واکسین ویک سروتیپ از رئو ویروسها در این آزمایشها مورد استفاده قرار گرفتند.

ویروسهای مزبور در کشت سلول سوش KB که در محیط غذایی هیدرولیزای کازئین با ۱۰ درصد سرم گوساله پرورش یافته بود وارد و پس از تکثیر آنها مایع کشت سلول بمدت نیم ساعت با سرعت ۳ هزار دور در دقیقه سانتریفوژ گردید، در نتیجه این عمل پیکره‌های متلاشی شده سلولها ته‌نشین و مایع زلالی که فقط حاوی ویروس بود بدست آمد، عیار 50 DICT، سوسپانسیون هر نوع ویروس بطریق Totaux Cumulatif تعیین شد و در آمپولهای سر بسته تا روز استعمال در حرارت منهای ۷۰ درجه نگهداری گردید.

۳- وارد کردن ویروس بمحیط ریشه وجستجوی آن در ساقه و برگ - با استفاده از متابولیت‌های محیط غذایی مایع، گیاهان بسرعت رشد کردند و در عرض ۱۰-۱۵ روز برای انجام آزمایش کاملاً آماده گردیدند. در این موقع محیط غذایی دور ریخته شد و جای آن با محیط تازه‌ای که در هر میلی لیتر حاوی 50 DICT ویروس مورد آزمایش بود پر گردید. برای محافظت ویروسها از اثر اشعه خورشید شیشه‌ها در کاغذ آلومینیومی پیچیده شد و دوباره در پشت پنجره قرار گرفت. ۲۴ ساعت بعد از تماس ریشه با محلول آلوده بو ویروس نمونه برداری از ساقه و برگ گیاهان آغاز گردید. برای اینکار قسمتی از انتهای يك ساقه با برگهایش قطع و در شیشه استوانه‌ای سر پیچ دار ۲۵ میلیمتری قرار داده شد. چنانچه آماده شدن وسایل کار برای ادامه آزمایشها مستلزم چندین روز وقت باشد نگهداری نمونه‌ها بحال انجماد ضروری است.

آماده کردن نمونه‌ها - در داخل شیشه‌های استوانه‌ای نمونه‌های گیاهی بوسیله قیچی استریل بقطعات ریزی تبدیل و سپس بوسیله يك میله شیشه‌ای توپر (باگت) استریل کاملاً سلايه گردیدند (بهتر است عمل سلايه کردن درهاون چینی با حضورشن سیلیسی بدون خاك انجام گیرد).

بعصاره حاصله مقدار ۳ تا ۵ میلی لیتر مایع ایزوتونیک هنکس یا ارل اضافه و عمل سلايه نمودن چند دقیقه ادامه داده شد تا چنانچه ویروسی در بافت‌های گیاهی موجود باشد در مایع آزاد گردد.

برای جدا کردن مایع افزوده شده از مواد جامد گیاهی، سوسپانسیون بدست آمده مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید و مایع زلالی که روی رسوب قرار داشت بوسیله پیپت پاستور حباب دار جمع آوری شد. حال اگر در نمونه گیاهی ویروسی وجود داشته باشد باید آنرا در مایع زلال بدست آمده جستجو کرد.

برای پی بردن بیودن یا نبودن ویروس در مایع مزبور تلقیح آن بکشت سلول الزامی است. مایعی که برای جستجوی ویروس بکشت سلول تلقیح می‌گردد باید از نظر باکتریولوژیک و میکولوژیک کاملاً استریل باشد زیرا وجود باکتری و یا اسپر قارچ در مایع سبب آلودگی سریع و ضایع شدن کشت سلول میشود و دیدن استحاله سلولی که دلیل بر وجود ویروس و تکثیر آن میباشد میسر نمیگردد. چون سطح خارجی اندام های گیاهی همواره آلوده بمیکرورها و هاگهای متعددی است که در هوا یافت میشوند بنابراین عصاره آنها نیز از این نظر آلوده بوده قابل تلقیح بکشت سلول نمیشاند. برای زایل کردن آلودگیهای مذکور بهر میلی لیتر از مایعی که جستجوی ویروس در آن منظور است مقدار ۱۰۰۰ واحد پنسیلین، ۲۵۰ میکروگرم استرپتومیسین و ۱۵۰ واحد میکواستاتین اضافه و لااقل مدت ۲۴ ساعت در حرارت ۴ درجه سانتیگراد نگهداری میشود.

**جستجوی ویروس در عصاره نمونه های گیاهی - برای پی بردن بوجود ویروس در عصاره حاصله از نمونه گیاهی تنها راه آسان و مطمئن تلقیح آن بکشت سلولهای میباید که نسبت به ویروسهای بکار برده شده حساس بوده و تکثیر ویروس در روی آنها بخوبی صورت میگیرد. سلولهاییکه بمنظور فوق در این تجربیات مورد استفاده قرار گرفتند عبارتند از سوشهای سلولی HeLa, K B و آمینوس جفت انسان.**

برای مطالعه هر عصاره از نظر ویروس شناسی دولوله از کشت هر یک از سلول های نامبرده را انتخاب و بهر کدام ۰.۵ میلی لیتر از عصاره گیاهی افزوده میگردد. لوله های تلقیح شده بمدت یکساعت در حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد طوری قرار داده میشوند که مایع غذائی روی سلولها را که بجدار لوله چسبیده اند بپوشاند پس از ۶۰ دقیقه مایع داخل لوله ها بامحیط غذائی تازه که برای رشد و تکثیر و ادامه حیات سلولها ضروری است جایگزین میشود. ضمناً نباید فراموش کرد که بعنوان شاهد نگهداری یک یا دولوله تلقیح نشده از هر نوع کشت سلول که بکار رفته است همراه با سلولهای تلقیح شده ضروری میباشد. کشت های سلولی تلقیح شده و شاهدها در حرارت ۳۷ درجه نگهداری و هر روز وضع یاخته ها بامیکروسکپ مورد مطالعه قرار میگیرد. سالم ماندن سلولها در لوله های شاهد و استحاله آنها بوضع مخصوص در لوله های تلقیح شده نماینده این است که در مایع مورد آزمایش ویروس وجود داشته و تکثیر آن در داخل سلولها موجب ضایع شدن کشت سلول گردیده است.

چنانچه تا هشت روز پس از تلقیح، اثر سیتوپاتوژن در کشت سلول دیده نشود و با وضع استحاله حاصله مشکوک جلوه نماید باید پسا ساژ دوم مبادرت کرد. برای انجام پسا ساژ، لوله های تلقیح شده را مدت ۲۴ ساعت بحرارت منهای ۴۰ یا منهای ۷۰ درجه برده سپس آنها را در حرارت معمولی آزمایشگاه میگذاریم تا مایع داخل لوله ها ذوب شوند. عمل انجماد و ذوب باین منظور انجام داده میشود که سلولها متلاشی شوند و چنانچه ویروسی در داخل آنها محبوس باشد آزاد گردد. حال مایع داخل لوله ها را با هم مخلوط نموده از آن چند قطره بکشت تازه سلول منتقل مینمائیم. لوله های پسا ساژ دوم را نیز مدت هشت تاده روز نگهداری و تحت کنترل روزانه قرار میدهیم چنانچه در انقضای این مدت نیز اثر سیتوپاتوژن در کشت سلول بروز نکند نتیجه آزمایش ویرو لوزیک عصاره گیاه منفی تلقی خواهد شد.

### نتایج

بخش اول - ویروسهای پلیومیلیت تیپ I و III کوکساکی B<sub>3</sub>، اکو ۲ و اکسین ویک سرو تیپ از رتو ویروسها که در مجاورت ریشه نخود، نخود فرنگی، لوبیا و عدس قرار داده شده بودند پس از ۲۴ ساعت از ساقه و برگ گیاهان مزبور بدست آمدند. بعبارت دیگر عصاره نمونه های برداشته شده از این گیاهان پس از تلقیح بکشت سلول سبب استحاله کامل سلولها گردید.

از تلقیح عصاره ساقه و برگ گیاهانی که ریشه شان بویروس آلوده نشده بود (شاهد) هیچگونه آسیب اختصاصی که دلیل بوجود یک عامل سیتوپاتوژن باشد در سلولها دیده نشد. ویروس پلیومیلیت و کوکساکی تا ۱۸ روز که آزمایش ادامه داشت در ساقه و برگ نخود هائیکه ریشه شان فقط مدت ۲۴ ساعت از محلول غذائی محتوی ویروس استفاده کرده بود وجود داشت. گیاهان مزبور روزانه چهار تا پنج ساعت در معرض اشعه مستقیم خورشید قرار داشتند.

مشاهدات بالا ثابت کرد که نه تنها ویروسهای کوچک (آنتر ویروسها) و متوسط (رتو ویروسها) بلکه ویروسهای خیلی درشتی نظیر واکسین که اندازه آن به ۲۰۰ میلی مو بالغ است اگر در مجاورت ریشه سالم و صدمه ندیده گیاهان قرار بگیرند در مدت کوتاهی به ساقه و برگ منتقل و این اندامها را نیز آلوده میسازند.

ویروسی که در مجاورت ریشه قرار دارد از طریق سطح اندامهای گیاهی بساقه و برگ منتقل نمیشود بلکه بتوسط تارهای کشنده ریشه جذب و از راه آوندهای چوبی

که قطر متوسط آنها بیش از ده مو میباشد باعضای هوایی گیاه میرسد و در درون آنها منتشر و مدتی زنده میماند زیرا :

۱- در مایع حاصل از شستشوی ساقه و برگ گیاهی که ریشه آن در مایع غذایی محتوی ویروس قرار داشت و ویروس بدست نیامد در صورتیکه عصاره همان نمونه شسته شده حامل ویروس بود .

۲ - از عصاره نمونه‌هایی که سطح خارجی آنها بوسیله اشعه ماوراء بنفش استریل شده بود ویروس جدا گردید .

۳- در آزمایش‌های بخش دوم که ذیلاً با آنها اشاره خواهد شد از دانه‌های لوبیا که از داخل نیام سبز و کاملاً بسته برداشت شده بودند ویروس پلیومیلیت ایزوله گردید ، همچنین از بخش درونی غده خوراکی تربچه نیز ویروس بدست آمد . بوسیله تست سرونوترالیزاسیون یکی بودن ویروسی که در مجاورت ریشه قرار داده شده بود با ویروسی که از ساقه و برگ بدست آمد در مورد ویروس پلیومیلیت تیپ I و بررسی شد و باثبات رسید .

بخش دوم - همانطوریکه قبلاً نیز اشاره گردید هدف نهائی آزمایشگاه در اقدام به تجربیاتی که ذکر شد این بوده است که نقش سبزیهای خوردنی را که با استفاده از کودهای طبیعی حاوی ویروس پرورش یافته‌اند در انتشار بعضی از امراض ویروسی مورد تحقیق قرار دهد . برای رسیدن باین هدف امکان جذب ویروسها توسط ریشه ، از محیط غذایی مایع بررسی و بثبوت رسید ولی برای اینکه بتوان نتیجه جامع‌تر و بهتری بدست آورد که با آنچه در طبیعت میگذرد وفق دهد در تجربیات بخش دوم چگونگی جذب ویروسها از خاک که محیط طبیعی و عادی کشت و رشد سبزیهای غذایی انسان است مورد مطالعه واقع شد . در این رشته از آزمایشها علاوه بر گیاهانی که در تجربیات رشته اول بکار برده شده بود ، بعضی از سبزیها نظیر تربچه (*Rhaphanus sativus*) ، کاهو (*Lactuca sp.*) و هویج (*Daucus carota*) خام خورده میشود (تربچه و کاهو) و یا شیره آنها بمصرف غذایی میرسد (هویج) بگیاهان گذشته اضافه گردید و همه آنها در خاک زراعتی کشت و پرورش داده شد. پس از اینکه رشد گیاهان کامل شد آنها را فقط یکبار با آب محتوی ویروس آبیاری کرده ۲۴ ساعت بعد نمونه‌های اول ، سه روز بعد نمونه‌های دوم و بعد از آن مرتباً هر هفته یک برداشت از نباتات انجام گردید. پی بردن نبود یا نبود ویروس در نمونه‌های بدست

آمده بهمان روش صورت گرفت که در مورد آزمایشهای بخش اول ذکر شده است .  
آزمایشهای سری دوم هم ثابت کرد که اگر در خاک زراعتی و پروس اعم از کوچک  
یا بزرگ وجود داشته باشد میتواند از راه ریشه وارد پیکر گیاهان شود و با جریان شیره  
خاک بساقه و برگ رسیده آنها را آلوده سازد.

پس از اضافه کردن و پروسها بخاک کشت تربچهها نمونه برداریهای هفتگی  
حضور و پروس پلیومیلیت را تا دو ماه که آزمایش ادامه داشت در آنها بشوت رسانید.  
گیاهان مزبور از زمان شروع آزمایش تا اختتام آنها همیشه در حرارت آزمایشگاه  
قرار داشته و از اشعه مستقیم خورشید دور بودند.

در آزمایشهای بخش دوم بخاک کشت گیاه لویبائی که میوه دار بود و پروس  
کو کساکئی B<sub>5</sub> اضافه گردید و پس از ۵ روز نیام سبز و بسته میوه باز شد و در دانههای  
لویبا بجستجوی و پروس اقدام گردید و جواب مثبت بدست آمد.

تأثیر بعضی از عوامل فیزیکی و شیمیائی روی و پروسهایی که در

داخل پیکر گیاه قرار دارند

الف - اشعه ماوراء بنفش - و پروسهای پلیو، کو کساکئی، اکو و بطور کلی  
اکثر و پروسها چنانچه بمدت ۱ تا ۵ دقیقه در معرض اشعه ماوراء بنفش قرار گیرند  
فعالیت حیاتی خود را ازدست میدهند ولی اگر این میکروارگانیسما در داخل اندام-  
های گیاهی قرار داشته باشند از تأثیر آن مصون میمانند.

تجربه : برگ تربچهای که طول آن به ۷ و عرضش به ۵ سانتیمتر بالغ بود و  
در خاک کشت آن و پروس پلیومیلیت قرار داشت در طول رگبرگ اصلی و دمبرگ بدو  
قسمت متساوی تقسیم گردید . هر کدام از سطوح زیرین و زیرین يك نیمه بمدت ۳۰  
دقیقه در معرض اشعه ماوراء بنفش قرار داده شد و نیمه دیگر بعنوان شاهد نگاهداری  
شد سپس در هر دو قسمت بجستجوی و پروس اقدام گردید و از هر دوی آنها و پروس  
بدست آمد. در يك تجربه دیگر از برگ تربچه که سطح آن بویروس پلیومیلیت آلوده  
شده بود و مدت ۵ دقیقه در معرض اشعه ماوراء بنفش مانده بود هیچ عامل سیتوپاتوزن  
مجزا نگردید .

ب - کلروپرمنگنات پنتاسیم - بر حسب تجربیاتی که انجام گردید آب کلر  
(محتوی ۵۰ میلیگرم کلر آزاد در هر لیتر) و محلول پرمنگنات پنتاسیم يك درصد هیچ-

گونه اثر ویروسیسید بروی آنتروویروسهائی که در داخل اندامهای گیاهی قرار دارند انجام نمیدهد زیرا اگر نمونه‌هائی از گیاهانی که در داخل اندام آنها ویروس وجود دارد مدت نیمساعت در محلولهای مزبور قرار داده شوند و پس از شستشو با آب مقطر استریل عصاره آنها بکشت سلول تلقیح گردد ویروس رشد میکند و سبب استحاله سلولی میگردد.

### بحث

آزمایشهائی که شرح آنها گذشت بخوبی نشان میدهد که ویروسهای حیوانی باسانی میتوانند از راه ریشه بداخل پیکر گیاه راه یافته و در اندک زمانی درون اندام-های هوائی گیاه و حتی میوه آن حضور یابند و مدت کم و بیش زیادی در بافتهای نباتات زنده بمانند. از این رو در کشور ایران و بطور کلی در ممالکی که از مدفوع انسان بعنوان کود طبیعی در کشاورزی و بخصوص در سبزیکاری استفاده میشود میتوان سبزیهای خوردنی را یکی از مهمترین عوامل انتشار بیماریهای محسوب کرد که ویروس مولد آنها بمقدار زیاد در مدفوع و یا ادرار وجود دارد. بطوریکه در مقدمه نیز اشاره شد ویروسهای پلیومیلیت، کوکساکسی، اکو، هپاتیت عفونی، آدنو-ویروسها، رتو ویروسها در مدفوع بیماران و افراد ظاهراً سالمی که بشکل خفیف و بدون علامت بیماریهای ناشی از ویروسهای نامبرده مبتلا شده‌اند بحد و فور یافت میشوند.

برخی از این میکروارگانیسرها نظیر ویروسهای پلیومیلیت، کوکساکسی، اکو، و مخصوصاً هپاتیت عفونی از مقاومت زیادی برخوردارند و ممکن است ماهها در محیط خارج زنده باقی بمانند و بمحض ورود در بدن اشخاص سالم آنها را مبتلا سازند. و قتیکه مواد دفعی انسان را بخاک کشت سبزیها اضافه مینمایند ویروسهای موجود در این کودهای طبیعی سبزیها را آلوده میکنند، این آلودگی یا بر اثر قرار گرفتن ویروس به روی سطح خارجی اندامهای گیاهی عملی میشود و یا در نتیجه نفوذ ویروس بداخل پیکر نباتات صورت میگردد.

در سبزیهاییکه ساقه و برگ و میوه آنها بطور خام بمصرف تغذیه انسان میرسد سطح این اندامها بعلت عدم تماس مستقیم با خاک و کود کمتر آلوده میشود و اگر هم بنحوی از انحاء ویروس موجود در کود طبیعی در سطح خارجی اندامهای هوائی گیاه جایگزین شود چون مستقیماً در معرض عواملی نظیر نور، اشعه مستقیم خورشید،

حرارت و خشکی قرار دارد و یا بوسیله پرمنگنات و کلر و غیره شسته میشود قسمت اعظم آن از بین میرود. با وجود این آلودگیهای سطحی را نمیتوان بی اهمیت تلقی کرد. از طرف دیگر نقشی که آلودگیهای اندامهای داخلی گیاهان میتواند در اپیدمیولوژی امراض ویروسی یاد شده داشته باشند با نقش آلودگیهای سطحی بهیچوجه قابل مقایسه نمیشد و اهمیت آن به مراتب از نظر بهداشت اجتماعی زیادتر است.

مثلاً وقتی که ویروسهای پلبومیلت، اکو، کوکساکسی و هپاتیت عفونی بوسیله ریشه کاهو جذب کردند خیلی زود بساقه و برگ رسیده آنها را آلوده میکنند. برگهای داخلی کاهو از مجاورت بانور و اشعه مستقیم خورشید و گرمای آن در امانند لذا ویروسها میتوانند از چند روز تا چند ماه در مجاورت بافتهای گیاهی زنده بمانند و سبب آلودگی مصرف کننده شوند.

طول مدت زنده ماندن یک نوع ویروس در داخل اندامهای گیاهی بعوامل متعددی بستگی دارد که مهمترین آنها عبارتند از:

**الف - وضع بیولوژیک ویروس - یک ویروس ممکن است مدتی در شرایط نامساعد محیط خارج بسر برده و قبل از ورود بداخل گیاه قسمت اعظم مقاومت خود را از دست داده باشد بدیهی است که چنین ویروسی در درون اندامهای گیاهی فقط مدت کوتاهی دوام خواهد کرد. در صورتیکه اگر همین ویروس بلافاصله پس از خروج از بدن انسان داخل اندامهای نبات گردد ممکن است ماهها در آنجا زنده بماند.**

**ب - محل ویروس در پیکر گیاه - طول مدت زندگی ویروس در داخل ریشه پراندرخته هویج و تربچه و یا ساقه و برگهای زیرزمینی سیروپاز که در داخل خاک قرار دارند باید بیشتر از زمانی باشد که این میکروارگانیسمها در ساقه و برگ قرار دارند برای اینکه اندامهای هوایی همواره در معرض نور و حرارت و مخصوصاً اشعه مستقیم خورشید واقع هستند.**

**ج - حرارت محیط - درجه حرارت محیط زندگی گیاه در طول حیات ویروسی که داخل اندامهای آن قرار دارد کاملاً مؤثر است بنابراین مدت مقاومت ویروس در درون پیکر گیاهان در تابستان کوتاهتر از بهار و پاییز خواهد بود.** بیش از ۹۵ درصد مصرف کنندگان سبزیهای خام فقط بشستن آنها با آب قناعت

میکند و ۵ درصد بقیه نیز باغوظهور ساختن کاهو و تربچه و هویج و سبزیجات دیگر در محلول باکتریسید و ویرولیسید فقط موفق براف آلودگیهای خارجی میشوند زیرا طبق تجربیات این مقاله محلولهای مزبور بروی ویروسهاییکه در داخل اندامهای گیاهی قرار دارند اثر نمیکند .

قسمتهای داخلی سیر و پیاز نیز که هیچگونه تماسی با خاک و کودهای آلوده ندارند ممکن است بر اساس پدیده جذب ویروسها بوسیله ریشه دارای ویروس باشند. خسوردن ترب و تربچه پرورش یافته در زمینی که کود آن مدفوع انسان بوده است ولو پس از استریل کردن پوست و یا برداشتن کامل آن ، خالی از خطر آلودگی نیست .

در انتشار ویروسها بوسیله سبزیها، نقش هویج خیلی مهم بنظر میرسد چون کثرت استفاده از شیره آن که برای حفظ سلامتی انجام میگردد ممکن است موجب ابتلا بیک بیماری ویروسی شود .

ویروسهای جذب شده توسط ریشه گیاه نه تنها در ساقه و برگ بلکه در میوه نیز راه پیدا میکند، از این رو احتمالاً داخل بعضی از میوهها نظیر توت فرنگی، گوجه فرنگی، فلفل سبز، خیار، خربوزه و هندوانه گرچه از نظر باکتریولوژیک استریل هستند ممکن است از نظر ویرولوژیک سترون نباشند .

مادامیکه ویروسها توسط ریشه گیاهان جذب میشوند تصور اینکه فورمهای فیلتران بعضی از باکتریها نیز بتوانند بداخل پیکر گیاه راه یابند بعید بنظر نمیرسد .

تحقیقاتی که بسال ۵۹-۱۹۵۸ توسط بوئه و پورنکی (۲۱) در تهران انجام گرفته است انتشار بسیار وسیع و بیش از حد عادی آنتر ویروسها را در میان مردم ایران بخوبی نمایان میسازد. استفاده از مدفوع انسان در کشاورزی و کثرت مصرف سبزیهای خام و میوههای یاد شده را میتوان از عوامل مؤثر فزونی آلودگی جامعه ایرانی بآنتر ویروسها و هپاتیت عفونی دانست . وقتی از آنتر ویروسها سخن بمیان میآید توجه اکثر مردم فقط بپلیومیلیت معطوف میگردد ، از آنجا که در ایران ۷۵ درصد بچههای از دو سال بیالا و تقریباً همه افراد بالغ در خون خود بر ضد یک ، دو یا هر سه تیپ ویروس پلیومیلیت دارای آنتی کورهای نوترالیزان میباشند (۲۱) و در مقابل فزونی خارج از حد وجود ویروس در بین مردم بیماری پلیومیلیت خیلی کم است ممکن است این عقیده پیدا شود که استفاده از مدفوع بعنوان کود لا اقل در کشور ایران آسیب قابل

توجهی بسلامت اجتماع نمی‌رساند .

این طرز فکر در صورتی صحیح بنظر میرسد که وجود ویروسهای کوکساکسی اکو، هپاتیت عفونی ، ادنوویروسها و رئوویروسها در مدفوع نادیده گرفته شوند ولی اینکار اشتباه محض است، بعقیده ما صدماتیکه کثرت انتشار ویروسهای اخیر بسلامت و اقتصاد اجتماع وارد میسازند جمعاً صدها مرتبه بیشتر از ویروس پلیومیلیت میباشد .

برای جلب توجه خوانندگان به مخاطراتی که ویروسهای یادشده برای سلامت و بهداشت عمومی ایجاد میکنند بذکر نام مهمترین عوارض ناشی از سروتیپهای متعدد آنها مبادرت میشود .

ویروسهای کوکساکسی میتوانند در انسان سبب بروز ناخوشی‌هایی نظیر هرپ آئزین (آئزین و زیکولوز) - بیماری بورن هلم (پلوردینی اپیدمیک) - میوکارڈیت - پری کارڈیت - پنومونی آتپیک - مننژیت آسپتیک - اگرانتم و فلج بشوند .

ویروسهای اکو قادرند انسان را به اسهال - گاستروآنتریت - مننژیت آسپتیک - تب - ناراحتی‌های تنفسی و فلج‌هایی شبیه پلیومیلیت مبتلا سازند .

آدنوویروسها در انسان سبب بروز ناراحتی‌هایی از قبیل تب - آئزین - کونژونکتیویت - کونژونکتیویت فولیکولر - کراتو کونژونکتیویت - آدنوپاتی گردن - گاستروآنتریت - آنسفالیت - شبه سیاه‌سرفه و بالاخره بر نکوپنوموپاتی میگردند .

بیماری اخیر خطرات زیادی در بر دارد و گاهی نیز بصورت اپیدمی در می‌آید چنانکه در يك همه‌گیری پنوموپاتی حاصل از آدنوویروسها که بسال ۱۹۵۸ در چین روی داد از ۳۳۹۸ بیمار ۵۲۸ نفر (۱۵٫۵ درصد) جان خود را ازدست دادند (۲۲) چون هریک از این ویروسها بیش از سی تیپ آنتی ژنیک دارند لذا این امکان وجود دارد که انسان هر چند وقت یکبار در معرض سروتیپ جدیدی از يك ویروس قرار گیرد و مجدداً آلوده شود . از طرف دیگر چون برخلاف پلیومیلیت آلودگی با این ویروسها مصنوعیت بادوامی بجا نمی‌گذارد پس از مدت کوتاهی آلودگی مجدد با يك سروتیپ امکان پذیر میباشد . بنابراین اگر پلیومیلیت هم نادیده گرفته شود باز استفاده از مدفوع انسانی بعنوان کود طبیعی خطر بزرگی برای بهداشت عمومی محسوب میگردد و برای سلامت افراد اجتماع لطمه‌های فراوانی وارد می‌آورد . ما توجه

کارشناسان بهداشت جهانی و مسئولین بهداشت مملکتی را باین نکته جلب و انتظار داریم با جلوگیری از بکار بردن مدفوع انسان در کشاورزی خدمت بزرگی به بهداشت اجتماعات بشری انجام دهند.

#### خلاصه

آزمایشهای انجام شده در این مطالعه ثابت کردند که :

۱- نه تنها ویروسهای کوچک ( آنتروویروسها ) بلکه ویروسهای درشتی که اندازه آنها در حدود ۲۰۰ میلی مو میباشد ( واکسین ) سهولت میتواند از راه ریشه بداخل پیکر گیاه راه یافته و در اندک زمانی درون اندامهای هوایی نبات و حتی میوه آن حضور یابند و بر حسب عوامل متعددی از قبیل نوع ویروس ، وضع بیولوژیکی آن هنگام ورود بداخل اندامهای گیاهی ، درجه حرارت محیط زندگی گیاه و احتمالاً محل آن در اندامهای نبات از چند روز تا چند ماه در بافتهای گیاهان زنده بمانند .

۲- اشعه ماوراء بنفش و محلولهای ویرولیسید نظیر آب کلر و پرمنگنات پتاسیم در روی ویروسهایی که درون اندامهای گیاهی قرار دارند اثر نمیکند .  
ویروسهای پلیومیلیت ، کوکساکسی ، اکو ، هپاتیت عفونی ، آدنوویروسها و رتوویروسها در مدفوع بیماران و افراد ظاهراً سالمی که باشکال خفیف وبدون علامت بیماریهای ناشی از ویروسهای نامبرده مبتلا شده اند بوفور یافت میشوند از این رو در کشور ایران وبطور کلی در کشورهاییکه از مدفوع انسان بعنوان کود طبیعی در کشاورزی وبخصوص در سبزیکاری استفاده میشود میتوان سبزیهایی را که خام مصرف میشود و احتمالاً بعضی از میوهها را یکی از مهمترین عوامل انتشار بیماریهایی محسوب کرد که ویروس مولد آنها در مدفوع و یا پیشاب وجود دارد .

1 - Landsteiner, K. et Popper, E. - Zeit. Immunforsch., 1909, t. 2, p. 377.

2 - Petterson, A. Kling, C. et Wernstedt, W. - Rep. State Med. Sweden, XVe congrès international d'hygiène, Washington, 1912

3 - Bonet, Maury, P. et Levaditi, C. - C. R. Soc. Biol. (Paris) 1942, t. 136, p. 481

4- Kling, C. Olin et Cool. - Acta Med. Scand, 1939, 102, p. 630

5- Kramer, S., Gilliam, A. et Molner, J. - Publ. Health. Rep. 1939 t. 54, p. 1914

- 6- Kling, C. et Levaditi, C. - Ann. Inst. Pasteur, 1913, t.27,p.718
- 7- Melnick, J. L. et Agren, K. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1952, t.81,p. 621
- 8- Spicer, C. C. - J. Hyg. (Lond.), 1961, t. 40. p. 156
- 9- Lapinleimu, K. et Penttinen, K. - Ann. Med. Exp. Biol. Fen., 1960, t. 38, p. 465
- 10- Zourbas, J., et Carre, M. - Sem. Hop. (Paris),1965, No 6,p.346
- 11- Lépine, P., Sedallian, P. et Sautter, V. . Bull. Acad. Med. (Paris) 1939, t. 122, p. 141
- 12- Lépine, P. - C. R. Soc. Biol. 1939, 131, p. 573
- 13- Kling, S. Levaditi, C. et Lépine, P. - Bull. Acad. Nat. Med., 1929, t. 102, p. 158
- 14- Rhodes, A. J. Clark, A. M. et coll. - Canad. J. Health. 1950 t. 41, p. 1946
- 15- Riodan, J. Paul, J. R. - Am. J. Hyg., 1961, t. 74, p. 123
- 16- Downey, T. W. - Yale J. Biol. and Med. 1963, t. 35, p.341
- 17- Bloom, H. H., Mack, W. N. et Coll. - J. Infect. Dis, 1959, t. 105, p. 61
- 18- Farrohi, Kh. Revue Immunol. (Paris), 1966, t. 30, p. 355
- 19- Coin, L. - Technique de l' eau, 1963. t. 200, p. 27
- 20- Boyer, J., Corre, L. et Tissier, M. - Sem. Hop. (Paris), 1951, No 22, p. 371
- 21- Boué, A., Pournaki, R. et Baltazard, M. - Acta medica iranica 1961, t. 4, p. 20
- 22 - Teng Chin - Hsien - Chin. Med. J., 1960, t. 80, p. 331