



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

دوره پنجم، شماره اول، بهار ۱۳۹۳

صفحات ۴۳-۵۰

## بررسی عیار پادتن ناشی از تزریق واکسن های توأم آبله گوسفندی و بروسلوز

احسان قریب ممبینی<sup>۱</sup>، منوچهر قریب ممبینی<sup>۲</sup>، مراد مرادی گراوند<sup>۳</sup>، عبد الامیر رضایی<sup>۴</sup>، محسن مشکوه<sup>۵</sup>، مصطفی کنارکوهی<sup>۶</sup>، داراب عبد الهی<sup>۷</sup>، کریم امیری<sup>۸</sup>، محمد آنتیک چی<sup>۹</sup>، افشین قریب ممبینی<sup>۱۰</sup>، ناهید سلطانی سده<sup>۱۱</sup>.

۱. دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز.

۲. اداره مبارزه با بیماری های دامی، اداره کل دامپزشکی استان خوزستان.

۳. رئیس گروه بیماری های میکروبی و سل گاوی، سازمان دامپزشکی کشور.

۴. مدیر کل بهداشت و مدیریت بیماری های دامی، سازمان دامپزشکی کشور.

۵. معاونت بهداشتی و پیشگیری، سازمان دامپزشکی کشور.

۶. مدیر کل دامپزشکی استان خوزستان.

۷. رئیس گروه بیماری های ویروسی سازمان دامپزشکی کشور.

۸. رئیس گروه کنترل بیماری بروسلوزیس، سازمان دامپزشکی کشور.

۹. کارشناس مبارزه با بیماری های دامی، اداره کل دامپزشکی استان خوزستان.

۱۰. دانشکده مهندسی، دانشگاه شهید چمران اهواز.

۱۱. دانشکده پزشکی، دانشگاه جنابى شاپور اهواز.

### چکیده

مقدمه و هدف: بروسلوزیس و آبله گوسفندی دو بیماری آندمیک در ایران بوده که سالیانه شیوع آن ها باعث خسارات اقتصادی و بهداشتی فراوانی می گردد. چهارپایان اهلی حساس به این دو بیماری چندین سال است که در ایران و در فصول مناسب توسط واکسن های تولیدی موسسه واکسن و سرم سازی رازی علیه این دو بیماری واکسینه می شوند. ولی تا به امروز موفقیتی در ریشه کنی این بیماری ها، مخصوصاً بیماری خطرناک بروسلوزیس که مشترک بین انسان و دام می باشد حاصل نشده است. در این مطالعه شاهد-موردی<sup>۱</sup> از ۴۰ بره با دامنه سنی ۳/۵ تا ۶ ماه که در یک گله بومی در اطراف اهواز نگه داری می شدند استفاده گردید. واکسن ها و محلول های مورد استفاده در این تحقیق از موسسه واکسن و سرم سازی تهیه شدند. نتایج: اطلاعات حاصل از این تحقیق نشان داد که مخلوط کردن واکسن باکتریال FDRev. 1 با واکسن ویروسی آبله گوسفندی و تزریق آن ها در یک نوبت همان تیر محافظت کننده حاصل از تزریق واکسن FDRev. 1 به تنهایی را ایجاد می کند. نتیجه-گیری: پس می توان با اجرائی نمودن این تحقیق در کل کشور، در نیروی انسانی و هزینه ها به دلیل تزریق این دو واکسن در یک نوبت به صورت مخلوط صرفه جوی کرد. همچنین از مضرات ناشی از تزریقات متعدد مانند استرس در دام ها نیز می کاهد.

واژه های کلیدی: واکسن، آبله گوسفندی، بروسلوزیس، رایت، مراکپتواتانول.



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res 5(1)43-50, 2014

## Survey on immunogenicity efficacy of a dual vaccine, Combined Rev. 1 and Sheep Pox Vaccine

Gharib Mambini, E.<sup>1</sup>, Gharib Mambini, M.<sup>2</sup>, Moradi Maravand, M.<sup>2</sup>, Rezaie, A.<sup>2</sup>,  
Mashkuh, M.<sup>2</sup>, Kenarkuhi, M.<sup>3</sup>, Abdolahi, D.<sup>2</sup>, Amiri, K.<sup>2</sup>, Antikchi, M.<sup>3</sup>, Gharib  
Mambini, A.<sup>4</sup>, Soltanisedeh, N.<sup>5</sup>

*1- Faculty Of Veterinary Medicine, Shahid Chamran Ahvaz University*

*2- Iran Veterinary Organization*

*3- Khuzestan Veterinary Organization*

*4- Shahid Chamran Ahvaz University*

*5- Faculty Of Medicine, Jondishahpour Ahvaz University*

### **Abstract**

The diseases, brucellosis and sheep pox, are endemic in Iran and they cause serious losses to the production and health of livestock. Susceptible livestock have been vaccinated against these two diseases in appropriate seasons with a vaccine from Razi Institute vaccine for several years. But these diseases, especially the dangerous zoonosis brucellosis, have not been eradicated after all these years. In this case-control study, 40 lambs within the age range of 3.5 - 6 months were selected from a native sheep flock. Vaccines and materials used in this survey were obtained from Razi Institute. This study revealed that the administration of dual vaccine contained of bacterial vaccines FDRev. 1 with sheep pox vaccine with one injection produced antibody titration as the same as FDRev.1 vaccine separately. It would be cost benefit to conduct this research for the whole country as it will save lots of money in the context of staff administration and vaccination. It can also decrease the side effects of multiple vaccinations such as stress.

**Key words:** Vaccine, Sheep pox, Brucellosis, Agglutination Test, Mercapto Ethanol

مقدمه

بروسلوزیس یک بیماری باکتریائی و مشترک بین انسان و دام می باشد که عامل آن از طریق مصرف فراورده های دامی غیر پاستوریزه و یا تماس با ترشحات دام آلوده به انسان منتقل می شود. این بیماری باعث خسارات اقتصادی و بهداشتی فراوانی در دامها می شود، مانند سقط جنین، کاهش تولید شیر، عقیمی و نازایی. به همین دلیل اکثر کشورها در تلاش برای کنترل هدفمند و ریشه کنی این بیماری می باشند (۵). مایه کوبی جمعیت های دامی حساس علیه بروسلوز تنها راه موثر جهت کنترل، ریشه کنی، کاهش میزان سقط و ترشح جرم در دامها و کاهش ابتلای دامها و به دنبال آن ابتلای انسانها می باشد (۱، ۲).

بیش از یک قرن از شناخت این بیماری می گذرد ولی همچنان در بسیاری از کشورهای جهان به ویژه کشورهای مدیترانه ای و خاورمیانه، بروسلوز به عنوان مهم ترین بیماری مشترک انسان و دام مطرح می باشد و تنها تعداد محدودی از کشورهای جهان توانسته اند این بیماری را ریشه کن کنند و یا در آستانه ی ریشه کنی آن باشند. کثرت گونه های عامل بیماری، تنوع در حیوانات میزبان، عدم کفایت برنامه های مایه کوبی و از همه مهمتر هزینه بسیار زیاد و نیاز به سرمایه گذاری سنگین باعث شده که همواره در بسیاری از کشورهای جهان کنترل و ریشه کنی این بیماری با مشکلات عدیده همراه باشد (۱۸).

تولید واکسن Rev. 1 از سال ۱۳۴۱ در موسسه واکسن و سرم سازی رازی آغاز شده و از سال ۱۳۴۲ تاکنون به صورت لیوفیلیزه عرضه می گردد. هر دوز این واکسن حاوی  $1 \times 10^9$  cfu باکتری تخفیف حدت یافته است و برای استفاده در بره ها و بزغاله های ۳ تا ۶ ماهه به صورت زیرجلدی تهیه شده است (۸).

در مورد آبله گوسفندی نیز بیان می شود که از بیماری های مهم ویروسی می باشد که با بروز تب، پاپول (جوش های برجسته و قرمز رنگ) و ندول (تورم التهابی عمیق) و به

ندرت وزیکول در قسمت های مختلف بدن و همچنین ضایعات داخلی به ویژه در شش ها همراه می باشد، که با مرگ دام های حساس همراه است (۳، ۷، ۱۱، ۱۲). این بیماری در اکثر نقاط جهان به ویژه آسیا و آفریقا اندمیک بوده و خسارات اقتصادی زیادی را ایجاد می کند. میزان واگیری این بیماری در گله های حساس گاهی به بیش از ۷۵ درصد در بالغین می رسد و میزان مرگ و میر در دام های جوان بین ۵ تا ۵۰ درصد متغیر بوده و در بره ها به ۱۰۰ درصد هم خواهد رسید (۱۰، ۱۶).

واکسیناسیون علیه بروسلوز و آبله گوسفندی به صورت جداگانه چندین سال است که در جمهوری اسلامی ایران انجام می شود ولی امکان مخلوط کردن این دو به صورت دوگانه تا به حال به بوتی آزمایش گذاشته نشده است.

هدف از انجام این تحقیق میدانی اثبات عدم کاهش اثر محافظت کنندگی واکسن Rev. 1، به صورت دوگانه و همراه با واکسن آبله گوسفندی هنگام استفاده می باشد.

مواد و روش کار

ایمن سازی بره ها

تعداد ۴۰ رأس بره با دامنه سنی ۳/۵ تا ۶ ماهه از یک گله بومی در نزدیکی اهواز انتخاب و در دو گروه ۲۰ تایی به صورت زیر تقسیم بندی شدند:

گروه اول، واکسن دز کامل (FDRev. 1  $10^9 \times 3-1$  cfu) باکتری بروسلا ملی تنسیس زنده) به صورت زیرجلدی و به مقدار یک میلی لیتر در ناحیه خلفی کتف در یک نوبت تزریق گردید.

گروه دوم، مخلوطی از واکسن های زنده آبله گوسفندی سوبه 65RM و FDRev. 1 با رعایت دوز به صورت زیرجلدی و به مقدار یک و نیم سی سی در ناحیه خلفی کتف در یک نوبت تزریق گردید.

### تعیین عیار آنتی‌بادی

عیار آنتی‌بادی‌ها در روزهای صفر، هفت، چهارده و سی تعیین و ثبت شد. برای تعیین عیار محافظت‌کننده در برابر بروسلوز از آزمایش‌های رایت (Standard Tube Agglutination Test: STAT) و ۲-مرکاپتواتانل (2-Mercapto Ethanol: 2-ME) استفاده گردید. تمامی آزمایشات طبق توصیه‌های سازمان جهانی بهداشت دام و سازمان دامپزشکی کشور انجام شد و از آنتی‌ژن‌ها، واکسن‌ها و محلول‌های تهیه شده در موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی استفاده گردید (۱۴).

### تحلیل آماری

اطلاعات مربوط به سطح سرمی آنتی‌بادی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه، با استفاده از روش GLM<sup>۱</sup> در نرم‌افزار آماری SAS<sup>۲</sup> مورد آنالیز واریانس با اندازه مکرر<sup>۳</sup> قرار گرفت. میانگین و خطای استاندارد برآورد و تفاوت میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی بررسی گردید. معیار تفاوت معناداری مقدار P کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### نتایج

در جدول ۱ و ۲ و نمودار شماره یک و دو، تغییرات سطح سرمی آنتی‌بادی به ترتیب توسط تست رایت (IgM) و تست ۲-مرکاپتواتانل (IgG) پس از ایمن‌سازی با واکسن Rev. 1 و مخلوط دو واکسن در بره‌ها نشان داده شده‌است، بر این اساس در مدل مورد مطالعه تغییرات سرم آنتی‌بادی در روزهای مختلف معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵). الگوی تغییرات عیار آنتی‌بادی بین گروه‌ها در روزهای مختلف معنی‌دار نبوده است (P>۰/۰۵).

در هر دو گروه هیچ گونه علائم بالینی و همچنین هیچ‌گونه ضایعه‌ای در محل تزریق نیز مشاهده نشد. شایان ذکر می‌باشد بعد از تزریق واکسن در هیچ‌کدام از بره‌ها عوارضی مشاهده نشد.

جدول ۱ نشان می‌دهد که ۱۴ روز پس از تزریق واکسن

در دو گروه، سطح آنتی‌بادی (IgM) به صورت معنی‌داری نسبت به هفته اول افزایش یافته است (P<۰/۰۵). ولی در روز ۳۰ پس از تزریق تیتراژ به صورت معناداری کاهش پیدا کرده ولی هنوز نسبت به تیتراژ هفته اول به صورت معناداری بالا می‌باشد، که این میزان از عیار محافظت‌کننده است (P<۰/۰۵).

در جدول ۲ دیده می‌شود اختلاف عیار آنتی‌بادی (IgG) در دو گروه در کل دوره زمانی بی‌معنی می‌باشد (P>۰/۰۵). در هر دو گروه در هفته دوم پس از تزریق واکسن تیتراژ آنتی‌بادی به صورت معنی‌داری افزایش یافته و در روز ۳۰ پس از تزریق، شاهد کاهش معنی‌دار عیار آنتی‌بادی می‌باشیم (P < ۰/۰۵).

### بحث

همانگونه که در جدول‌های ۱ و ۲ مشخص می‌باشد هیچ‌گونه اختلاف معناداری در استفاده واکسن Rev. 1 به تنهایی و یا به همراه واکسن آبله گوسفندی مشاهده نشده است (P>۰/۰۵). در علم دامپزشکی تاکنون موفقیت‌های زیادی در مورد ایجاد مخلوطی از واکسن‌ها بدون کاهش اثر ایمنی‌زایی قابل قبول وجود داشته است، مانند تولید واکسنی توأم علیه بیماری تب برفکی، سپتی‌سمی خونی و سیاه‌مرض توسط Reddy و همکاران (۱۹۹۷)، واکسنی مخلوط، علیه بیماری‌های شاربن و آبله گوسفندی توسط محمداحمد و همکاران در سال ۲۰۰۷ و همچنین تولید واکسن نو ترکیب علیه بیماری آنترتوکسمی مخلوط با ویروس تخفیف حدت یافته آبله گوسفندی توسط Chandran و همکاران (۲۰۱۰) (۴، ۱۳، ۱۷).

طبق گزارش سازمان دامپزشکی کشور در حال حاضر سالیانه بیش از تعداد ۶۶۴۹۸۰۵۰ و ۱۲۳۵۱۰۸۴ راس بره و بزغاله حساس کاندید برای واکسیناسیون به ترتیب علیه آبله و بروسلوز می‌باشند، که در صورت ادغام این دو واکسن و یکی شدن این دو برنامه‌ی مجزا باعث صرفه‌جویی هنگفتی در هزینه‌ها و نیروی انسانی اکیپ‌های صحرائی مبارزه با بیماری‌های دامی می‌شود (۹، ۱۵). و همچنین این نهاد اعلام کرده‌است که شیوع بروسلوز در بین استان‌های کشور بین

1. General linear model
2. Statistical analysis system
3. Repeated measure analysis of variance

## بررسی عیار پادتن ناشی از تزریق واکسن های توأم آبله گوسفندی و بروسوز

دنبال مصرف مخلوط واکسن ها و همچنین صرفه جویی در هزینه ها، وقت و نیروی انسانی متخصص و همچنین عدم ایجاد استرس واکسیناسیون به دلیل تزریقات متعدد می باشد. طبق اطلاعات نویسندگان مخلوط کردن این دو واکسن که ماهیت متفاوتی (ویروسی به همراه باکتریائی) دارند برای اولین بار به بوته آزمایش گذاشته شده است. معمولا به دنبال مخلوط کردن انواع مختلف واکسن ها شاهد ایجاد واکنش های متقاطع نامطلوب هستیم (۶، ۱۹) درحالی که خوشبختانه تزریق مخلوط این دو واکسن باکتریال و ویروسی در بره ها هیچ گونه واکنش مضر موضعی و عمومی چه به صورت زودهنگام و یا تاخیری در بر نداشت.

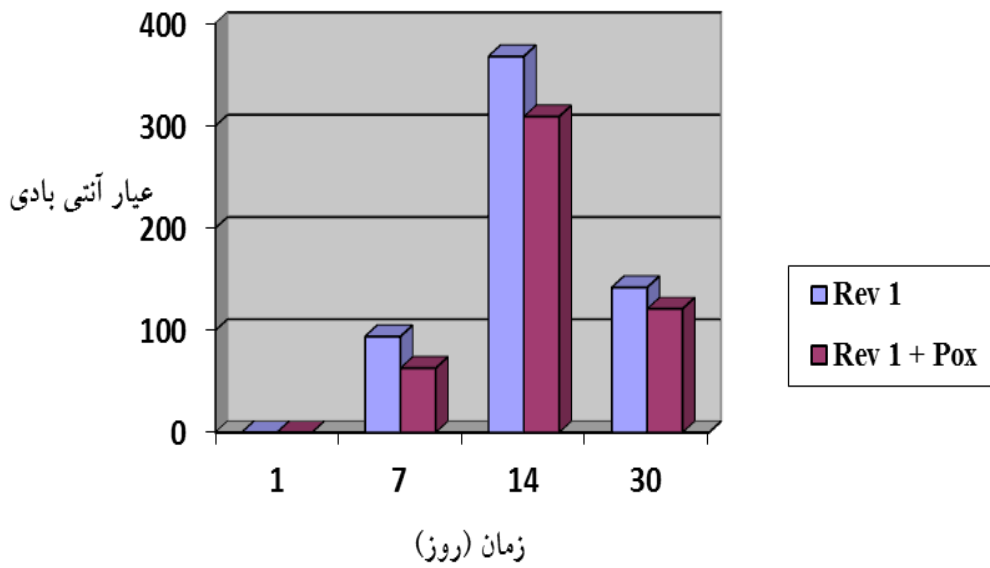
۶/۱۴-۰/۱۹ درصد متغیر می باشد. که این آلودگی با توجه به انجام واکسیناسیون سالانه علیه این بیماری کاهش داشته ولی به دلیل کانون های متعدد، کمبود اعتبارات، تجهیزات و امکانات برای اجرای طرح جامع واکسیناسیون در سطح وسیع علیه این بیماری، تا کنون موفق به ریشه کنی این بیماری در سطح کشور نشده اند. بروز بیماری بروسوزیس در بین جمعیت های انسانی و دامی و بیماری آبله گوسفندی در بین جمعیت دامی ایران در سال ۱۳۴۸ به دلیل وقوع اپیدمی طاعون گاوی در کشور به صورت کنترل نشده ای افزایش یافت، دلیل اشاعه گسترده این بوده است که پرسنل سازمان دامپزشکی از کلیه امور معمول خارج و برای مبارزه با طاعون گاوی اعزام گردیدند (۹، ۱۵). هدف اصلی از این تحقیق ایمنی زائی قابل قبول به

**جدول ۱:** میانگین و انحراف معیار آنتی بادی ضد بروسلا بدست آمده توسط تست رایت در بره های دریافت کننده ی واکسن ها (حروف بزرگ اختلاف معنی دار ( $P < 0/05$ ) داخل ستون و حروف کوچک اختلاف معنی دار ( $P < 0/05$ ) داخل ردیف را نشان می دهند).

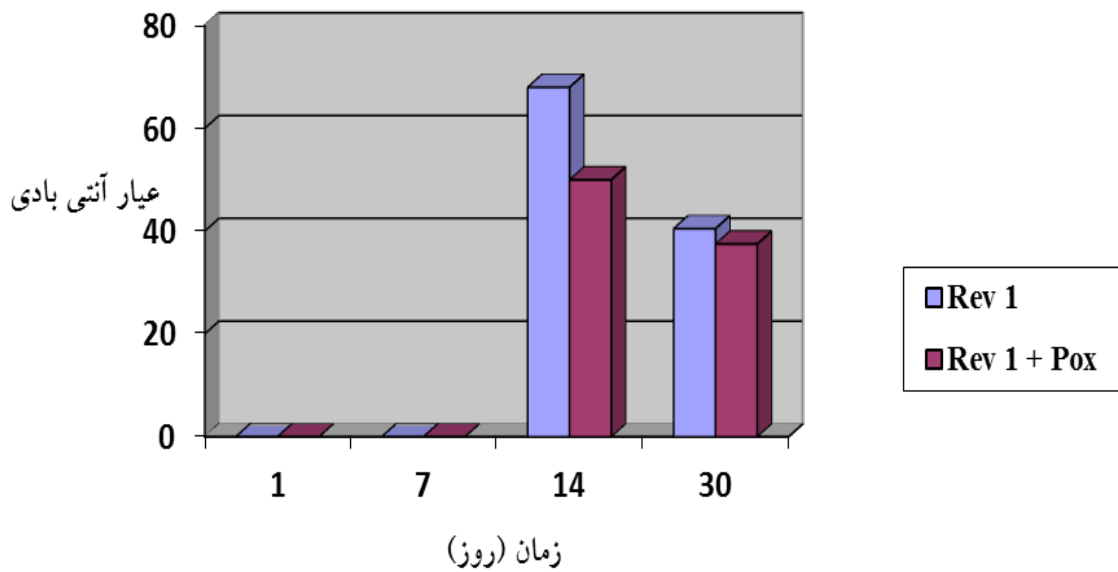
روز				
	۳۰	۱۴	۷	صفر
FDRev. 1	$142 \pm 36/18^{Ad}$	$368 \pm 53/94^{Ac}$	$94 \pm 10/57^{Ab}$	$0 \pm 0^{Aa}$
FDRev. 1 به همراه آبله گوسفندی	$121 \pm 24/98^{Ad}$	$309 \pm 52/66^{Ac}$	$63 \pm 13/47^{Ab}$	$0 \pm 0^{Aa}$

**جدول ۲:** میانگین و انحراف معیار آنتی بادی ضد بروسلا بدست آمده توسط تست ۲-مرکاپتواتانل در بره های دریافت کننده ی واکسن ها (حروف بزرگ اختلاف معنی دار ( $P < 0/05$ ) داخل ستون و حروف کوچک اختلاف معنی دار ( $P < 0/05$ ) داخل ردیف را نشان می دهند).

روز				
	۳۰	۱۴	۷	صفر
FDRev. 1	$40/50 \pm 9/41^{Bb}$	$68 \pm 19/91^{Bb}$	$0 \pm 0^{Aa}$	$0 \pm 0^{Aa}$
FDRev. 1 به همراه آبله گوسفندی	$37/50 \pm 10/87^{Bb}$	$50 \pm 15/44^{Bb}$	$0 \pm 0^{Aa}$	$0 \pm 0^{Aa}$



نمودار شماره ۱- عیار آنتی‌بادی ضدبروسلا بدست آمده توسط تست راییت در دو گروه دریافت‌کننده واکسن Rev 1 به تنهایی و Rev 1 + Pox به همراه آبله.



نمودار شماره ۲- عیار آنتی‌بادی ضدبروسلا بدست آمده توسط تست ۲-مرکاپتواتانل در دو گروه دریافت‌کننده واکسن Rev 1 به تنهایی و Rev 1 + Pox به همراه آبله.

#### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از مساعدت‌های سازمان دامپزشکی کل کشور که هزینه‌های تحقیق اخیر را فراهم نمودند تقدیر و تشکر می‌نمایند.

**References**

1. Alton, G. (1987): Control of *Brucella melitensis* Infection in Sheep and Goats: a review. *Tropical Animal Health and Production*, vol, 19, No,2. pp: 65-74.
2. Blasco, J. (1997): A review of the use of *B. melitensis* Rev. 1 vaccine in adult sheep and goats. *Preventive veterinary medicine*, vol, 31, No,3-4. pp: 275-83.
3. Carn, V.M. (1995): An antigen trapping ELISA for the detection of capripox virus in tissue culture supernatant and biopsy samples. *Journal of Virological Methods*, vol, 51. pp: 95-102.
4. Chandran, D.; Naidu, S.S.; Sugumar, P.; Rani, G.S.; Pallichera, S.; Mathur, D.; Garg, L.C. And Srinivasan, V.A. (2010): Development of a recombinant Epsilon Toxoid vaccine against enterotoxemia and its use as a combination vaccine with live attenuated sheep pox virus against enterotoxemia and sheep pox. *Clinical and Vaccine Immunology*, vol, 17, No,6. pp: 1013-1016.
5. Corbel, M.J. (1997): Brucellosis: an overview. *Emerging Infectious Diseases journal*, vol, 3. pp: 213-218.
6. Czeschinski PA, Binding N, Witting U. (2000): Hepatitis A and hepatitis B vaccinations: immunogenicity of combined vaccine and of simultaneously or separately applied single vaccines. *Vaccine*. 18 (11-12): 1074-1080.
7. Davies, F.G. (1991): Lumpy skin disease. A capripoc virus infection of cattle in Africa FAO, Rome.
8. Elberg, S.S. (1981): Rev. 1 *Brucella melitensis* vaccine. *Veterinary Bulletin*, vol, 51. pp: 67-73.
9. Esmaili H, Ekhtiyar Zadeh H, Ebrahim Zadeh H, Partovi R, Marhamati Khamemeh B, Hamed M, Khaji L. (2012): Evaluation of the National Sheep and Goat Brucellosis Control Program in Iran. *Arak Med Univ J*. 14(7): 9-20.
10. Heine, H.G.; Stevens, M.P.; Foord, A.J. And Boyle, D.B. (1999): A capripox virus detection PCR and antibody ELISA based on the major antigen P32, the homology of the vaccinia virus H3L gene. *Journal of Immunological Methods*, vol, 227. pp: 187-196.
11. Hosamani, M.; Mondal, B. and Tembhurne, P.A. (2004): Differentiation of sheep pox and goat pox poxviruses by sequence analysis and PCR-RFLP of P32 gene. *Virus Genes*, vol, 29, No,1. pp: 73-80.
12. Lowry, O.H.; Rosen-Brough, N.J.; Farr, A.Z. And Randall, R.J. (1951): Protein measurement with the folin-phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, vol, 193. pp: 265-275.
13. Mohamed Ahmad, A.; Mukhtar, M.M.; ElHusseini, A.M.; Tageldin, A.M.; Nourand, A.M. And Fadol, M.A. (2007): Combined Anthrax and Sheep Pox Vaccine, Production and Immunization Trial in Sudan. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, vol, 6, No,4. pp: 517-521.
14. OIE. (2008): Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Office International des Epizooties, Paris, France, pp: 1092-106.
15. Rafyi A, Mir Chamsy H. (1956): Seven

years' control of sheep pox in Iran with an adsorbed tissue vaccine on aluminium gel. Brit Vet J. 112: 541-547.

16. Rao, T.V.S. And Bandyopadhyay, S.K. (2000): A comprehensive review of goat pox and sheep pox and their diagnoses. Animal Health Research Reviews, vol, 1, No,2. pp: 127-136.

17. Reddy, G.; Antony, P. and Srinivasan, V. (1997): Serological response to combined vaccine of cattle against foot-and-mouth disease, haemorrhagic septicaemia and black quarter. The Indian Journal of Animal Sciences, vol, 67. pp: 585-586.

18. WHO. (1998): Human and animal Brucellosis. Report of a WHO workshop. Damascus: Syrian Arab Republic.

19. Wilder-Smith A, Paton NI. (2002): Crossover Vaccination with Quadrivalent Meningococcal Vaccine (against A/C/Y/W-135) Following Recent Application of Bivalent Meningococcal Vaccine (against A/C): Assessment of Safety and Side Effect Profile. J Travel Med. 9(1): 20-23.