مجله پژوهش های بالینی دامپزشکی
JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

دوره پنجم، شماره اول، بهار ۱۳۹۳
صفحات ۵۰-۴۳

بررسی عیار پادتن ناشی از تزریق واکسن‌های توأم آبله گوسفندی و بروسلوز

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

۱. دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز.

۲. اداره مبارزه با بیماری‌های دامی، اداره کل دامپزشکی استان خوزستان.

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

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

۵. معاونت بهداشتی و پیشگیری، سازمان دامپزشکی کشور.

۶. مدیر کل دامپزشکی استان خوزستان.

۷. رئیس گروه بیماری‌های ویروسی سازمان دامپزشکی کشور.

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

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

۱۰. دانشکده مهندسی، دانشگاه شهید چمران اهواز.

۱۱. دانشکده پزشکی، دانشگاه جندی شاپور اهواز.

چکیده

مقدمه و هدف: بروسلوزیس و آبله گوسفندی دو بیماری آندمیک در ایران بوده که سالیانه شیوع آن‌ها باعث خسارات اقتصادی و بهداشتی فراوانی می‌گردد. چهارپایان اهلی حساس به این دو بیماری چندین سال است که در ایران و در فصول مناسب توسط واکسن‌های تولیدی موسسه واکسن و سرم سازی رازی علیه این دو بیماری واکسینه می‌شوند. ولی تا به امروز موفقیتی در ریشه کنی این بیماری ها، مخصوصا بیماری خطرناک بروسلوزیس که مشترک بین انسان و دام می‌باشد حاصل نشده است. در این مطالعه شاهد-موردی[۱] از ۴۰ بره با دامنه سنی ۳/۵ تا ۶ ماه که در یک گله بومی در اطراف اهواز نگه داری می‌شدند استفاده گردید. واکسن‌ها و محلول‌های مورد استفاده در این تحقیق از موسسه واکسن و سرم سازی رازی تهیه شدند. نتایج: اطلاعات حاصل از این تحقیق نشان داد که مخلوط کردن واکسن باکتریال FDRev. 1 با واکسن ویروسی آبله گوسفندی و تزریق آن‌ها در یک نوبت همان تیتر محافظت کنندگی حاصل از تزریق واکسن FDRev. 1 به تنهایی را ایجاد می‌کند. نتیجه-گیری: پس می‌توان با اجرائی نمودن این تحقیق در کل کشور، در نیروی انسانی و هزینه‌ها 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 دام‌ها نیز می‌کاهد.

واژه‌های کلیدی: واکسن، آبله گوسفندی، بروسلوزیس، رایت، مرکاپتواتانول.

1- Case-control

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.[1], Gharib Mambini, M.[2], Moradi Maravand, M.[2], Rezaie, A.[2], Mashkuh, M.[2], Kenarkuhi, M.[3], Abdolahi, D.[2], Amiri, K.[2], Antikchi, M.[3], Gharib Mambini, A.[4], Soltanisedeh, N.[5]

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 می‌باشد که عامل آن از طریق مصرف فراورده‌های دامی غیر پاستوریزه و یا تماس با ترشحات دام آلوده به انسان منتقل می‌شود. این بیماری باعث خسارات اقتصادی و بهداشتی فراوانی در دام‌ها می‌شود، مانند سقط جنین، کاهش تولید شیر، عقیمی و نازایی. به همین دلیل اکثر کشورها در تلاش برای کنترل هدفمند و ریشه‌کنی این بیماری می‌باشند (۵). مایه‌کوبی جمعیت‌های دامی حساس علیه بروسلوز تنها راه موثر جهت کنترل، ریشه‌کنی، کاهش میزان سقط و ترشح جرم در دام‌ها و کاهش ابتلای دام‌ها و به دنبال آن ابتلای انسان‌ها می‌باشد (۱، ۲).

بیش از یک قرن از شناخت این بیماری می‌گذرد ولی همچنان در بسیاری از کشورهای جهان به‌ویژه کشورهای مدیترانه‌ای و خاورمیانه، بروسلوز به عنوان مهم‌ترین بیماری مشترک انسان و دام مطرح می‌باشد و تنها تعداد محدودی از کشورهای جهان توانسته‌اند این بیماری را ریشه‌کن کنند و یا در آستانه‌ی ریشه‌کنی آن باشند. کثرت گونه‌های عامل بیماری، تنوع در حیوانات میزبان، عدم کفایت برنامه‌های مایه‌کوبی و از همه مهمتر هزینه بسیار زیاد و نیاز به سرمایه‌گذاری سنگین باعث شده که همواره در بسیاری از کشورهای جهان کنترل و ریشه‌کنی 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 می‌گردد. هر دوز این واکسن حاوی 1×10^{9} cfu باکتری تخفیف حدت یافته است و برای استفاده در بره‌ها و بزغاله‌های ۳ تا ۶ ماهه به صورت زیرجلدی تهیه شده است(۸).

در مورد آبله گوسفندی نیز بیان می‌شود که از بیماری‌های مهم ویروسی می‌باشد که با بروز تب، پاپول (جوش های برجسته و قرمز رنگ) و ندول (تورم التهابی عمیق) و به ندرت وزیکول در قسمت‌های مختلف بدن و همچنین ضایعات داخلی به ویژه در شش‌ها همراه می‌باشد، که با مرگ دام‌های حساس همراه است (۳، ۷، ۱۱، ۱۲). این بیماری در اکثر نقاط جهان به‌ویژه آسیا و آفریقا اندمیک بوده و خسارات اقتصادی زیادی را ایجاد می‌کند. میزان واگیری این بیماری در گله‌های حساس گاهی به بیش از ۷۵درصد در بالغین می‌رسد و میزان مرگ‌ومیر در دام‌های جوان بین ۵ تا ۵۰درصد متغییر بوده و در بره‌ها به ۱۰۰درصد هم خواهد رسید (۱۰، ۱۶).

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

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

مواد و روش کار

ایمن‌سازی بره‌ها

تعداد ۴۰ رأس بره با دامنه‌سنی ۳/۵ تا ۶ماهه 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 ($1-3\times10^{9}$ Cfu باکتری *بروسلاملی‌تنسیس* زنده) به صورت زیرجلدی و به مقدار یک میلی‌لیتر در ناحیه خلفی کتف در یک نوبت تزریق گردید.

گروه دوم، مخلوطی از واکسن‌های زنده آبله گوسفندی سویه 65RM و FDRev. 1 با رعایت دوز به صورت زیرجلدی و به مقدار یک‌ونیم سی‌سی در ناحیه خلفی کتف در یک نوبت تزریق گردید.

تعیین عیار آنتی‌بادی

عیار آنتی‌بادی‌ها در روزهای صفر، هفت، چهارده و سی تعین و ثبت شد. برای تعین 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[1] در نرم‌افزار آماری SAS[2] مورد آنالیز واریانس با اندازه مکرر[3] 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 معنی دارنبوده 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 تیتر به صورت معناداری کاهش پیدا کرده ولی هنوز نسبت به تیتر 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 هفته‌ی دوم پس از تزریق واکسن تیتر آنتی‌بادی به صورت معنی‌داری افزایش یافته ودر 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 ایمنی‌زائی 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 نوترکیب علیه بیماری آنتروتوکسمی 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 صحرایی 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

۰/۱۹–۶/۱۴ درصد متغییر می‌باشد. که این آلودگی با توجه به انجام واکسیناسیون سالانه علیه این بیماری کاهش داشته ولی به دلیل کانون‌های متعدد، کمبود اعتبارات، تجهیزات و امکانات برای اجرای طرح جامع واکسیناسیون در سطح وسیع علیه این بیماری، تا کنون موفق به ریشه‌کنی این بیماری در سطح کشور نشده‌اند.

بروز بیماری بروسلوزیس در بین جمعیت‌های 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 نشده‌ای 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 ایمنی‌زائی قابل قبول به دنبال مصرف مخلوط واکسن‌ها و همچنین صرفه‌جویی در هزینه‌ها، وقت و نیروی انسانی متخصص و همچنین عدم ایجاد استرس واکسیناسیون به دلیل تزریقات متعدد می‌باشد. 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.

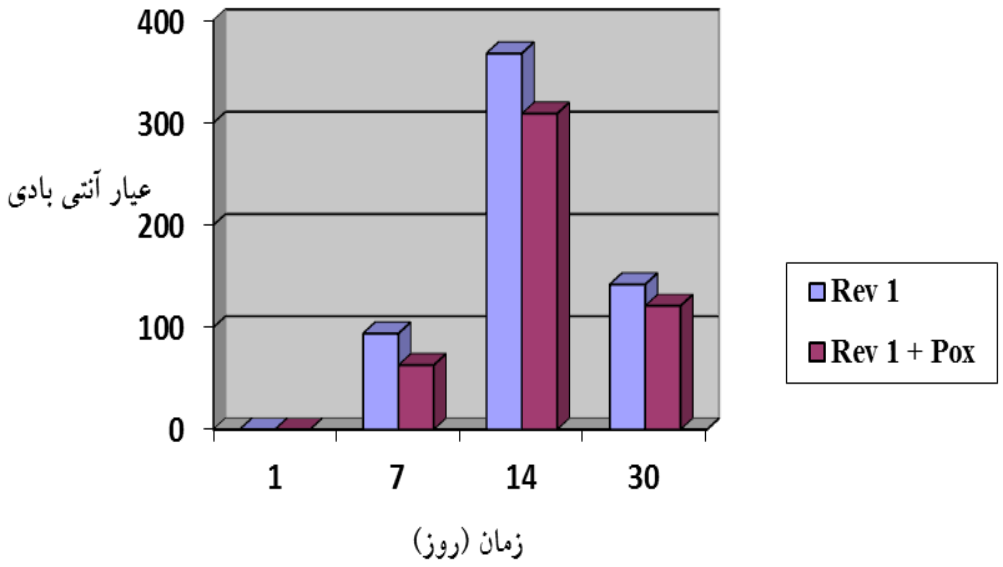
معمولا به دنبال مخلوط کردن انواع مختلف واکسن‌ها شاهد ایجاد واکنش‌های متقاطع نامطلوب هستیم (۶، ۱۹) درحالی که خوشبختانه تزریق مخلوط این دو واکسن باکتریال و ویروسی در بره‌ها هیچ‌گونه واکنش مضر موضعی و عمومی چه به صورت زودهنگام و یا تاخیری در برنداشت.

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار عیار آنتی‌بادی ضدبروسلا بدست آمده توسط تست رایت در بره‌های دریافت کننده‌ی واکسن‌ها (حروف بزرگ اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) داخل ستون و حروف کوچک اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) داخل ردیف را نشان می‌دهند).

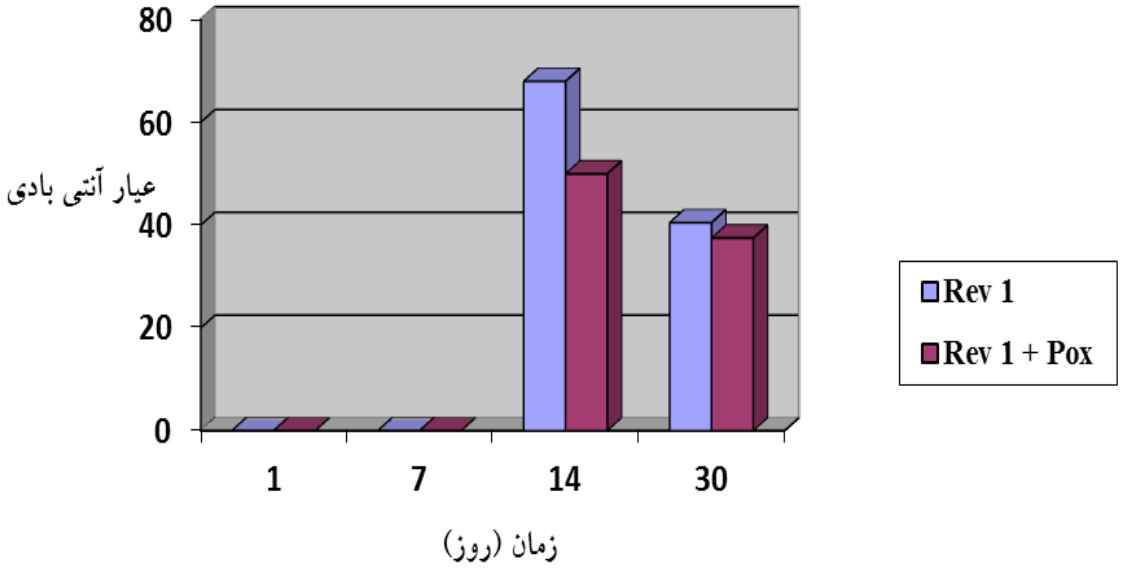
	روز			
	صفر	۷	۱۴	۳۰
FDRev. 1	۰±۰^{Aa}	۹۴±۱۰/۵۷^{Ab}	۳۶۸±۵۳/۹۴^{Ac}	۱۴۲±۳۶/۱۸^{Ad}
FDRev. 1 به همراه آبله گوسفندی	۰±۰^{Aa}	۶۳±۱۳/۴۷^{Ab}	۳۰۹±۵۲/۶۶^{Ac}	۱۲۱±۲۴/۹۸^{Ad}

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار عیار آنتی‌بادی ضدبروسلا بدست آمده توسط تست ۲–مرکاپتواتانل در بره‌های دریافت کننده‌ی واکسن‌ها (حروف بزرگ اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) داخل ستون و حروف کوچک اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) داخل ردیف را نشان می‌دهند).

	روز			
	صفر	۷	۱۴	۳۰
FDRev. 1	۰±۰^{Aa}	۰±۰^{Aa}	۶۸±۱۹/۹۱^{Bb}	۴۰/۵۰±۹/۴۱^{Bb}
FDRev. 1 به همراه آبله گوسفندی	۰±۰^{Aa}	۰±۰^{Aa}	۵۰±۱۵/۴۴^{Bb}	۳۷/۵۰±۱۰/۸۷^{Bb}



نمودار شماره ۱- عیار آنتی‌بادی ضدبروسلا بدست آمده توسط تست رایت در دو گروه دریافت‌کننده واکسن Rev 1 به تنهایی و Rev 1 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 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. melitansis 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 melitansis vaccine. Veterinary Bulletin, vol, 51. pp: 67-73.

9. Esmaeili H, Ekhtiyar Zadeh H, Ebrahim Zadeh H, Partovi R, Marhamati Khamemeh B, Hamedi 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.; ElHussein, 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, haemorhagic 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.