طرح بررسی آنتی‌بادی ضد طاعون گاوی با استفاده از آنتی‌ژن سرخك (هماگلوتینین) و مقایسه آن با آزمایش سرونوترالیزاسیون (S.N.)

مجری طرح: دکتر عباس شفیعی
مشاور علمی: دکتر حسین میرشمسی
همکاران:
۱) خانم دکتر رحمانی -علی ساسانی -صابر نصیری- خانم حمزه‌لو (بخش ویروس شناسی پزشکی)
۲) دکتر حسامی -دکتر خدمتی -دکتر قابوسی -خانم حقیقتی (بخش ویروس شناسی دامپزشکی)
۳) همکاران عزیز سازمان کل دامپزشکی

مقدمه

در خانواده Paramyxoviridae سه گروه Paramyxovirus, Morbilivirus و Pneumovirus وجود دارد در گروه Morbilivirus که مورد بحث ما است، چهار ویروس مهم که برای انسان و دام بیماریزا می‌باشد وجود دارد: ویروس سرخك، ویروس بیماری سگهای جوان (Distemper)، ویروس طاعون گاوی (Rindlerpest) و ویروس طاعون نشخوارکنندگان کوچك.

از نظر خصوصیات سرولوژی رابطهٔ نزدیکی بین چهار بیماری فوق‌الذکر وجود دارد (Gibbs et al ۱۹۷۹. Plowright در سال ۱۹۶۲ موفق شد که آنتی‌بادی طاعون ضد گاوی (Neutr alizing antibody) را در بچه‌های آفریقائی که قبلاً سرخك گرفته‌اند و یا گاوها و خرگوشهائی راکه قبلاً به آنها آنتی‌ژن سرخك تزریق شده بود تشخیص دهد. در سال ۱۹۶۵، Delay و همکارانش موفق به نشان دادن C.F. آنتی‌بادی ضد سرخك (Complement Fixation Antibody) در سرم سگهای واکسینه شده، با واکسن طاعون گاوی شدند و همین محققین موفق شدند که آنتی‌بادی ضد طاعون گاوی را در سرم سگها و میمونهای واکسینه شده با ویروس سرخك تشخیص دهند، اما نتیجه همین بررسی در بچه‌هائی که با واکسن سرخك تزریق شده بودند نسبت، به طاعون گاوی منفی بود.

Encless-Ruckle, Waterson Ratt (۱۹۶۳) نشان دادند که آنتی‌بادی ضد طاعون گاوی از هماگلوتیناسیون آنتی‌ژن سرخك جلوگیری می‌نماید. بر اساس این یافته، Bogel و همکاران در سال ۱۹۶۶ از آزمایش Hemaglutination (H.I.) Inhibation با استفاده از هماگلوتینین سرخك برای بررسی آنتی‌بادی اختصاصی ضد طاعون گاوی استفاده نمودند و ثابت نمودند که نتایج این آزمایش برای بررسی سطح ایمنی بر ضد طاعون گاوی در گاوان کاملاً رضایت بخش می‌باشد خصوصاً آنکه سهولت سرعت عمل و ارزانی آزمایش بر سایر روش‌ها برتری دارد، ضمناً خاطر نشان نمودند که اجرای این روش برای تشخیص موارد مشکوك بیماری در کشورهائی که بیماری طاعون گاوی ندارند و مجاز به استفاده از ویروس زنده طاعون گاوی جهت کارهای تشخیصی نیستند، کاملاً بی‌خطر و مجاز است.

تماس مکرر خرگوش با ویروس سرخك آن را در مقابل سوش بیماریزای طاعون گاوی حفظ می‌نماید، ولی از طرف دیگر تزریق ویروس سرخك به گاو، نمی‌تواند آن را در مقابل طاعون گاوی ایمن‌سازد و بهترین توضیحی که دربارهٔ علت این موضوع ذکر می‌شود، آنست که ویروس سرخك نمی‌تواند در بدن گاو رشد و تزاید نماید. نظیر همین بررسی در سال ۱۳۴۸ در انستیتورازی توسط دکتر میرشمسی و نگارنده، انجام و همان نتیجه حاصل شد (نتایج چاپ نشده). با توجه به این مقدمه انگیزه انتخاب این موضوع به عنوان یك طرح تحقیقاتی تا اندازه‌ای روشن می‌گردد. همزمان با اجرای این طرح در بخش ویروس شناسی حیوانی انستیتورازی، طرحی نیز تحت عنوان بررسی سطح ایمنی گاوان کشور در مقابل بیماری طاعون گاوی با استفاده از روش خنثی‌سازی آنتی‌بادی مربوطه Sero (S.N.T) Neutralization Test در جریان بود، لذا هم‌زمانی دو طرح، بهترین موقع برای مقایسه نتایج دو روش S.N.T و H.I. تشخیص داده شد و نتایج این دو روش در روی ۸۸۳ نمونه سرم گاو و گوساله که توسط سازمان دامپزشکی کل کشور از نقاط مختلف ایران به مؤسسه ارسال شده بود، مورد مقایسه قرار گرفتند.

مواد و روش آزمایش

۱ - آزمایش S.N.

این آزمایش طبق روش متداول و طبق استاندارد بخش طاعون گاوی در روی سلول لاین کلیه گوساله (B.K.) توسط واحد مربوطه انجام شد، ضمناً نمونه‌ای از سرمهای تحت آزمایش نیز جهت بررسی به روش H.I. در اختیار بخش سرخك قرار داده شد. در طول مدت آزمایش هیچ یك از طرفین از نتایج کار یکدیگر اطلاع نداشتند. در پایان کار نتایج دو روش با هم مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفتند. در آزمایش S.N.، به علت مشکل و پر هزینه بودن آن فقط از رقت سرم ۱:۲ استفاده شده بود و در آزمایش H.I. نیز برای آنکه دو روش با یکدیگر هم‌خوانی داشته باشند اولین رقت به کار رفته ۱:۲ انتخاب شد.

۲ - آزمایش H.I.

الف - تهیه آنتی‌ژن (هماگلوتینین)

سوش حاد ویروس سرخك (Edmonston) در روی سلول لاین کلیه میمون (Vero) کشت داده شد و پس از آنکه سیتوپاتوژنی کامل گردید، با استفاده از Tween 80 و اتر به روش Norrby ، هماگلوتین مورد نیاز آزمایش، تهیه گردید.

ب - آماده نمودن سرمهای تحت آزمایش

به ۰/۲ میلی‌لیتر مکعب از سرم تحت آزمایش که قبلاً به مدت نیمساعت در ۵۶ درجه گرم شده است، مقدار ۰/۲ میلی‌متر مکعب از کائولن ۲۵٪ (وزن به حجم) در بافر P.B.S. اضافه نموده و به مدت ۲۰ دقیقه در حرارت اطاق در دستگاه تکان دهنده قرار داده، سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دوهزار دور سانتریفوژ می‌نماییم. به این ترتیب موکوپروتئین‌ها که مانعی در راه ایجاد واکنش هستند، جذب کائولن شده و ته‌نشین می‌گردند، سپس مایع رو را جدا کرده و به آن یك قطره (۵۰ لاندا) گلبول قرمز شسته شده میمون از غلظت ۵۰٪ (حجم به حجم در P.B.S.) اضافه می‌نماییم. مخلوط را یك ساعت در حرارت ۳۷ درجه قرار می‌دهیم. به این ترتیب آگلوتینهای غیر اختصاصی که

احتمالاً ممکن است در بعضی از سرمهای تحت آزمایش وجود داشته باشد حذف می‌گردد و نمونه پس از سانتریفوژ شدن مورد آزمایش H.I. قرار می‌گیرد.

ج - سنجش عیار آنتی‌ژن سرخک (هماگلوتینین)

رقت‌های مختلف آنتی‌ژنی که طرز تهیه آن در بالا گفته شد، در حجم استاندارد (۲۵ لاندا) در میکروپلیت تهیه شده و سپس به آن دو حجم استاندارد (۵۰ لاندا) از تعلیق ۰/۵٪ گلبول قرمز میمون در P.B.S اضافه نموده، پس از تکان دادن، در حرارت ۳۷ درجه قرار می‌دهیم و بعد از دو ساعت نتیجه را خوانده، آخرین رقتی که در آن هما گلوتیناسیون اتفاق افتاده باشد، یك واحد فرض می‌گردد. در هر آزمایش H.I. از آنتی‌ژنی که ۴ واحد آنتی‌ژن هما گلوتینین داشته باشد، استفاده می‌گردد.

د: انجام آزمایش H.I.

کلیه آزمایشها با استفاده از میکروپلیت V شکل و قطره چکان و لوپ‌های به حجم ۲۵ لاندا، عملی می‌گردد. بنابراین از نظر میزان مواد مصرفی بسیار باصرفه بوده و علاوه بر این، در زمان کوتاهی می‌توان تعداد زیادی نمونهٔ سرم را تحت آزمایش قرار داد.

رقت‌های مختلفی از سرمهایی که قبلاً طرز آماده نمودن آنها بیان شد، تهیه می‌گردد و به هر حفره از میکروپلیت که رقت‌های مختلف سرم در آن تهیه شده است، یك قطره (۲۵ لاندا) از آنتی‌ژنی که هر قطرهٔ آن حاوی ۴ واحد آگلوتینین سرخک می‌باشد، اضافه نموده، سپس آنراطوری تکان داده تا به خوبی مخلوط شوند. پلیت مزبور را به مدت یك ساعت در حرارت ۳۷ درجه قرار داده، بعد به عنوان شاخص به هر حفره دو قطره (۵۰ لاندا) از تعلیق گلبول قرمز میمون ۰/۵٪ اضافه نموده و پس از تکان مجدد، به گرمخانه ۳۷ درجه منتقل و پس از دو ساعت نتایج هما گلوتیناسیون را با استفاده از آینهٔ مخصوص قرائت و یادداشت می‌کنیم.

ازمایش اولیه به منظور بررسی ادعا با واقعیت

الف - انتخاب ۵ لو سرم گوساله که از کشتارگاه زیاران به منظور استفاده در کشت سلول تهیه شده بود و در آزمایشات اولیه مثبت بودن آنهااز نظر آنتی‌بادی ضد طاعون گاوی به روش خنثی سازی (S.N.) به ثبوت رسیده بود (سرمهای شماره ۱، ۲، ۳، ۵ و ۷).

ب - انتخاب یك لو سرم وارداتی از فرانسه که از نظر آنتی‌بادی ضد طاعون گاوی به روش S.N. منفی تشخیص داده شده بود (سرم شماره ۴).

ج - انتخاب یك نمونه سرم هیپرایمیون ضد طاعون گاوی که در سال ۱۳۴۸ توسط دکتر آمیغی و همکاران در بخش واکسنهای ویروسی دامپزشکی در روی خرگوش تهیه شده بود (سرم شاهد مثبت شماره ۱).

د - انتخاب یك نمونه سرم هیپرایمیون ضد ویروس سرخك که در سال ۱۳۳۶ توسط مجری طرح در روی میمون تهیه و نگهداری شده بود (شاهد مثبت شماره ۲).

هـ - حذف آنتی‌بادی یکی از سرمهای مثبت بند الف (سرم شماره ۷) با استفاده از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ و استفاده از آن در جریان آزمایشاتبه عنوان شاهد منفی شماره ۱).

و - استفاده از سرم یکی از میمونهای وارداتی که فاقد آنتی‌بادی ضد سرخك و ضد طاعون گاوی در روش S.N. بود (به عنوان شاهد منفی شماره ۲) جدول ۱ نتیجهٔ آزمایش اولیه در مورد سرمهای ذکر شده در بالا را نشان می‌دهد.

قابل تکرار بودن آزمایش (Reproducibility) و درصد تطابق نتایج با یکدیگر

در زمینه بررسیهای آزمایشگاهی، آزمایشی مورد تأیید است که قابل تکرار و نتایج حاصله با هم قابل تطبیق باشند. روی این اصل نمونه‌های سرم به کار رفته در آزمایش اولیه به مدت ۵ بار (یک بار در هفته و پنج هفته متوالی) مورد آزمایش مجدد قرار گرفتند که نتایج آن در جدول ۲ ارائه شده است.

نتیجه

در این بررسی جمعاً ۸۸۳ نمونه سرم گاو گوساله ارسالی از سازمان دامپزشکی به دو طریقه H.I. و S.N. مورد آزمایش قرار گرفتند. آزمایشهای S.N. کلاً توسط بخش ویروس‌شناسی دامپزشکی و آزمایش H.I. توسط بخش ویروس‌شناسی و تولید و تحقیق واکسنهای ویروسی مصرف پزشکی انجام پذیرفته است و همانطور که قبلاً اشاره شد در طول مدت آزماش هیچ یك از طرفین از نتایج کار یکدیگر با اطلاع نبوده و سرمها تحت شمارهٔ کد بین دو بخش رد و بدل می‌شد.

نتایج بررسی کلی دو بخش در جدول ۳ ارائه شده است. چنانچه ملاحظه می‌شود در این بررسی کلی در آزمایش H.I. ۷۷٪، و در آزمایش S.N. ۷۸٪ دامها واجد آنتی‌بادی ضد طاعون گاوی می‌باشند.

تطابق نتایج دو آزمایش H.I. ،S.N. با یکدیگر

در این بررسی نتایج حاصله از دو روش در ۸۸۳ نمونه مورد آزمایش با هم تطبیق داده شدند و در ۱۸ درصد موارد نتایج با هم مطابقت نداشتند در جدول شماره ۴ موارد تطابق و عدم تطابق دو آزمایش مورد بحث خلاصه شده است. چنانچه در جدول ۴ نشان داده شده است در دو آزمایش مورد بحث، ۶۹٪ حیوانات در هر دو روش واجد آنتی‌بادی ضد طاعون گاوی و ۱۳٪ آنها فاقد آن می‌باشند یعنی در مجموع ۸۲٪ موارد نتایج دو روش با هم منطبق می‌باشند و تقریباً در ۱۸٪ موارد نتایج با هم تطابق ندارند.

تعیین میزان H.I. آنتی‌بادی در نمونه‌های تحت آزمایش

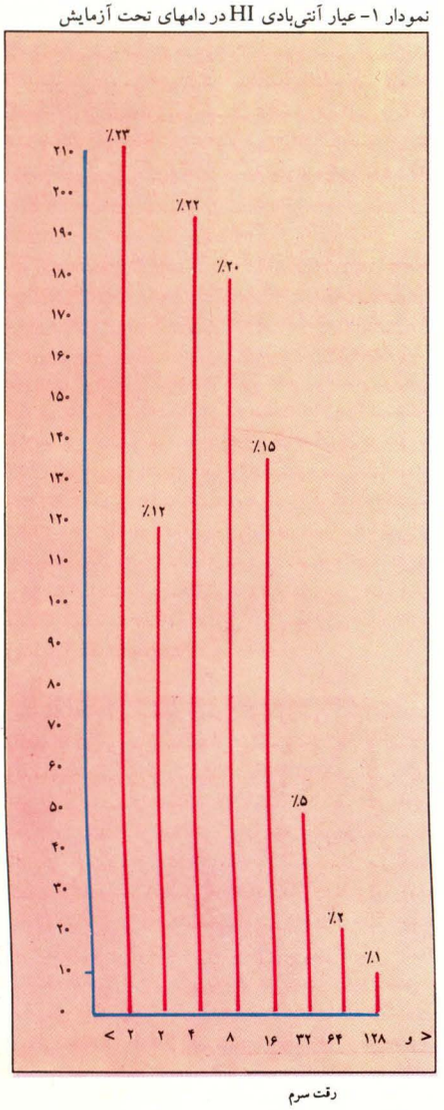
در روش S.N. به علت سختی کار، پرهزینه بودن، و وقت‌گیر بودن آن فقط از رقت ۱:۲ سرم استفاده شده است. بنابراین تخمین میزان آنتی‌بادی در این روش برای ما امکان پذیر نبود و حال آنکه در روش H.I. رقت‌های متفاوتی از سرم گوساله‌های تحت آزمایش استفاده شده است، در این روش از رقت ۱:۲ تا ۱:۱۲۸ استفاده نموده‌ایم که نتایج آن در جدول ۵ نمودار (۱) ارائه شده است.

بحث

عفونت مجدد بدون بروز علائم کلینیکی (Inapparent infection) در بیماری طاعون گاوی مانند سایر بیماریهای ویروسی اتفاق می‌افتد. همانطوری که در مورد بیماری سرخك Medearis, Katz, Enders در میمونهای واکسینه شده با واکسن زنده سرخك که بعدها با سوش حاد تزریق شده بودند مشاهده نمودند.

در انسان نیز Hilleman, Buynak, Reilly, Stock مشاهده نمودند که در بچه‌های واکسینه شده با واکسن زندهٔ سرخك که از عیار آنتی‌بادی کمی

نمودار ۱- عیار آنتی‌بادی HI در دامهای تحت آزمایش



جدول شماره ۱: نتیجهٔ آزمایش اولیه که اختصاص بودن واکنش رانشان می‌دهد

نمونه سرم	رقت سرم ۱ به: ۲	۴	۸	۱۶	۳۲	۶۴	۱۲۸	۱:۲SC	تیتر ۱:HI
۱	*	*	*	****	****			*	۸
۲	*	*	*	****	****			*	۸
۳	*	*	*	**	****			*	۸
۴	****	****	****	****	****			*	۲
۵	*	*	*	**	****			*	۸
7(-R) P.E.G Treated(1)	****	****	****	****	****			*	۲
Rinderpest(+R) Rabbit(1)	*	*	*	*	*	****		*	۳۲
Measles(+R) Monkey(2)	*	*	*	*	*	*	****	*	۶۴
P.E.G (-R)Treated ser(2)	****	****	****	****	****			*	<2
Measles HA	****	****	****	*	*	*	*	*	4 U HA
cont.(back titration)									
MRBC Control	*	*	*	*	*	*	*	*	O.K.

**** هماگلوتیناسیون ۱۰۰٪ *** هماگلوتیناسیون ۷۵٪ ** هماگلوتیناسیون ۵۰٪ * هماگلوتیناسیون صفر درصد یا عدم هماگلوتیناسیون یا Inhibition

(کمتر از ۱:۸) برخوردارند در صورتی که در منطقه‌ای که بیماری سرخك به صورت اپیدمی شایع می‌باشد قرار گیرند، عفونت مجدد در آنها اتفاق افتاده بدون آنکه نشانه‌ای از بیماری را نشان دهند، در این رابطه Chanock, Mufson, Bloom, Johnson تزاید آنتی‌بادی در این گونه افراد را که دال بر عفونت مجدد می‌باشد نشان دادند.

بایستی به خاطر داشت که از نقطه نظر کنترل بیماری طاعون گاوی در مناطقی که بیماری به صورت بومی وجود دارد، بایستی به خاطر داشت عدم وجود علائم کلینیکی در گاوان واکسینه که در مجاورت گاوهای آلوده قرار گرفته‌اند دلیل عدم تزاید ویروس حاد در بدن آنها (حداقل به مدت ده روز) نیست. بعلاوه این خطر وجود دارد که این گونه گاوان در نقل و انتقال ویروس به دامهای غیر واکسینه به صورت حامل (Carrier) نقش داشته باشند. بنابراین اگر گلهٔ واکسینه شده‌ای، از منطقه‌ای که آلوده می‌باشد، عبور داده شود و به منطقهٔ دیگر ی که دامهای غیر واکسینه وجود دارند برده شود، احتمال انتقال ویروس در حین عبور از منطقه آلوده به منطقهٔ عاری از بیماری وجود دارد (Plowright & Taylor).

Provost و همکاران در یك بررسی دقیق نشان دادند که در مورد گوساله‌های واکسینه شده با واکسن زنده، دو سال پس از واکسیناسیون ۳۰٪ دامها آنتی‌بادی خود را از دست می‌دهند و ۷۰٪ بقیه که از نظر آنتی‌بادی مثبت می‌باشند، در صورتی که در محل آلوده قرار گیرند آلودگی مجدد (Reinfection) در آنها اتفاق می‌افتد بدون آنکه علائم کلینیکی از خود نشان دهند و این گونه دامها ویروس را از ترشحات بینی و دهان خود دفع می‌نمایند و می‌توانند در انتشار بیماری نقش داشته باشند. ظاهراً این و طور به نظر می‌رسد که در بعضی از دامهای واکسینه شده با واکسن زنده طاعون گاوی، ایمنی حاصله طولانی نیست، به خصوص اگر حیوان در معرض چالش طبیعی قرار نگیرد.

آیا می‌توان گوساله‌ای تازه متولد شده را با واکسن زندهٔ طاعون گاوی ایمن نمود؟

طبق نوشته‌های V.W.Smith و دیگران گوساله‌های جوان پس از تولد از مادر ایمن شده بر ضد طاعون گاوی، آنتی‌بادی لازم را از طریق هضم کلستروم کسب می‌نمایند و بالطبع واکسیناسیون با واکسن زندهٔ طاعون گاوی تحت تأثیر این آنتی‌بادی منتقله از مادر ظاهراً خنثی می‌گردد. ولی اگر مادر فاقد آنتی‌بادی باشد بالطبع گوساله متولد شده از چنین مادری فاقد آنتی‌بادی لازم خواهد بود و در این صورت آیا می‌توان چنین گوساله‌های را واکسینه نمود یا خیر؟! آیا گوسالهٔ جوان تازه متولد شده قادر به پاسخ ایمنی لازم در مقابل آنتی‌ژن خصوصاً آنتی‌ژن زنده طاعون گاوی خواهد بود؟

طبق تجربیات نگارنده در مورد بیماری سرخك، کودکان زیر ۶ ماه و فاقد آنتی‌بادی سرخك قادر به پاسخ لازم نسبت به آنتی‌ژن زنده ویروس واکسن سرخك نیستند. مکرراً مشاهده نموده‌ایم که در صورتی که به این گونه اطفال واکسن تزریق نماییم، آنتی‌بادی لازم در آنها تولید نمی‌گردد و جالب‌تر آنکه اگر واکسیناسیون را برای بار دوم و سوم نیز در ماههای بعد و یا حتی پس از یك‌سالگی تکرار نماییم، باز هم قادر به تشخیص آنتی‌بادی نخواهیم بود و در حقیقت یك نوع «تحمل ایمنی» در طفل مشاهده می‌شود. نظیر چنین پدیده‌ای را دیگران نیز مانند Shasby متذکر شده‌اند. با توجه به این که ویروس سرخك و ویروس طاعون گاوی از نظر خانواده و خصوصیات آنتی‌ژنی و ایمونولوژی تشابهاتی با هم دارند آیا این پدیده در گوساله‌های جوان نیز اتفاق می‌افتد؟ نگارنده پاسخی را برای این سوال در نشریات پیدا نکرده است به هر حال موضوعی است که از نظر تحقیقاتی ارزش آنرا دارد که توسط مسئولین واحد مربوطه پیگیری شود.

با توجه به مطالبی که ذکر آن گذشت و احتمال اینکه عفونت مجدد در دامهایی که از عیار آنتی‌بادی کمی برخوردارند آیا رقت ۱:۲ سرم که در آزمایش به روش S.N. جهت تخمین وضع ایمنی از آن استفاده میشود کافی است؟ چه میزان عیار حفاظتی (Protective titre) باید باشد تا بتوان حیوان را ایمن دانست؟ Johnson معتقد است اگر N.I. (Neutralization Index) حدود ۲/۳ باشد حیوان از آنتی‌بادی کمی برخوردار است و در مرز ابتلا به بیماری قرار دارد اما اینکه چه تیتری از روش S.N. با

جدول شماره ۲: قابل تکرار بودن آزمایش (Reproducibility)

نمونه‌های سرم	تیتر HI درهفته ۱	۲	۳	۴	قابل تکراربودن آزمایش ۵	٪
*						
۱	۸	۸	۸	۸	۵/۵	۱۰۰
۲	۸	۸	۸	۱۶*	۵/۵	۱۰۰
۳	۸	۱۶*	۸	۸	۵/۵	۱۰۰
۴	<۲	<۲	<۲	<۲	<۲	۱۰۰
۵	۱۶*	۱۶*	۸	۸	۵/۵	۱۰۰
7(-R)P.E.G Treated(1)	<۲	<۲	<۲	<۲	<۲	۱۰۰
Rinderpest(+R) Rabbit(1)	۳۲	۳۲	۶۴*	۳۲	۳۲	۱۰۰
Measles(+R) Monkey(2)	۶۴	۳۲*	۶۴	۶۴	۶۴	۱۰۰
P.E.G Treated calf ser(2)(-R)	<۲	<۲	<۲	<۲	<۲	۱۰۰
کل نمونه‌های مورد آزمایش	۹	۹	۹	۹	۴۵/۴۵	۱۰۰

* اختلاف یک رقت در آزمایشهای سرولوژی جزء خطاهای مجاز آزمایش (artifact) بوده و خللی در ارزش آن ایجاد نمی‌کند.

جدول شماره ۳: نتیجهٔ کلی دو آزمایش S.N., H.I.

کل مواد آزمایش شده	H.I.		S.N.	
	*(-)	**(+)	*(-)	**(+)
۸۸۳	۶۸۱	۲۰۲	۶۹۴	۱۸۹
٪	٪۷۷	٪۲۳	٪۷۸	٪۲۲

*(-): واجد آنتی‌بادی ضد طاعون گاوی در آزمایش مربوطه *(+): فاقد آنتی‌بادی ضد طاعون گاوی در آزمایش مربوطه

چه عددی از N.I. مطابقت دارد معلوم نیست. ما در روش S.N. برای سهولت فقط از رقت ۱:۲ سرم استفاده نموده‌ایم و معیار قضاوت مافقط روی یك رقت می‌باشد. آیا این رقت دارای چندین N.I. است؟ آیا واقعاً" خنثی شدن ویروس در رقت ۱:۲ سرم دلیلی بر ایمنی لازم است؟ به هر حال پاسخ به این سوالات نیاز به ماهها و سالها مطالعه دارد.

در هر حال ما در آزمایش H.I. محدودیتی برای انتخاب رقت‌های متوالی نداشتیم چون آزمایش سریع، ارزان و آسان بود روی این اصل از رقت ۱:۲ تا رقت ۱:۱۲۸ سرم، مورد آزمایش H.I. قرار گرفتند. به طوری که در جدول ۵ مشاهده می‌شود، ۲۹ رأس از ۸۸۳ رأس دارای تیتر H.I. آنتی‌بادی ۱:۶۴ و به بالا می باشند (جمعاً" ۳٪) در عفونتهای ویروسی معمولاً" تیتر ۱:۶۴ و به بالا را دلیل بر عفونت اخیر (Recent infection) می‌دانند اگر این موضوع در مورد طاعون گاوی نیز صحیح باشد، پس این طور نتیجه می‌گیریم که احتمالاً" بیماری طبیعی در منطقه وجود داشته و یا احیاناً" عده‌ای از دامهای تحت آزمایش در نقش حامل، ویروس طبیعی را به دامهایی که از عیار آنتی‌بادی کمی برخوردار بوده‌اند منتقل کرده‌اند و باعث بالا رفتن عیار آنتی‌بادی آنها شده‌اند و اگر این تصور صحیح باشد، همانطور که در جدول ۴ نشان داده شده است، حداقل ۱۳٪ دامها فاقد آنتی‌بادی قابل تشخیص (Detectable) در هر دو روش می‌باشند که احتمالاً" ممکن است در معرض ابتلا باشند، ولی این که عدم وجود آنتی‌بادی قابل تشخیص در دامهای واکسینه‌شده دلیل عدم ایمنی است یا نه موضوعی است که ارزش مطالعه و بررسی را دارد.

همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است آزمایش H.I. با استفاده از آنتی‌ژن سرخك در مورد طاعون گاوی بسیار قابل تکرار است ولی آیا تست S.N. نیز به همین میزان قابل تکرار می‌باشد؟ به هر حال در مقایسه دو روش به طوری که در جدول ۴ نشان داده شده است، حدود ۸۲٪ با یکدیگر هم خوانی دارند و به ترتیب در ۸و ۹٪ موارد که جمعاً" ۱۷٪ می‌شود نتایج دو روش با یکدیگر تطابق ندارند.

جدول ۴ : تطابق یا عدم تطابق نتایج دو آزمایش H.I., S.N.

کل موارد آزمایش شده	تطابق				عدم تطابق			
	S.N.	H.I.	S.N.	H.I.	S.N.	H.I.	S.N.	H.I.
شده	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)
	<a>		<b>		<c>		<d>	
۸۸۳	۶۰۹		۱۱۷		۷۲		۸۵	
٪	٪۶۹		٪۱۳		٪۸		٪۹	

<a> SN(-) HI(-): واجد آنتی‌بادی ضد طاعون گاوی در هر دو آزمایش

<b> SN(+) HI(+):فاقد آنتی‌بادی ضد طاعون گاوی در هر دو آزمایش

<c> SN(+) HI(-):واجد آنتی‌بادی ضد طاعون گاوی در آزمایش H.I و فاقد آنتی‌بادی ضد طاعون گاوی در آزمایش S.N.

<d> SN(-) HI(+):فاقد آنتی‌بادی ضد طاعون گاوی در آزمایش H.I و واجد آنتی‌بادی ضد طاعون گاوی در آزمایش S.N.

جدول ۵: عیار آنتی‌بادی H.I در دامهای تحت آزمایش

کل موارد آزمایش شده	رقت سرم ا به...						
	<۲	۲	۴	۸	۱۶	۳۲	۶۴	۱۲۸ و بالاتر
۸۸۳	۲۰۲	۱۰۶	۱۹۵	۱۷۳	۱۳۳	۴۵	۱۹	۱۰
٪۱۰۰	٪۲۳	٪۱۲	٪۲۲	٪۲۰	٪۱۵	٪۵	٪۲	٪۱

منابع مورد استفاده

1- Afshar A., & Myers D. J. 1986 Simple and rapid dot- enzyme immuno assay for visual detection of rinderpest antibodies in bovine and caprine sera Trop. Anim. Hlth prod. 18, PP 209-216

2- Brown R. D. , J. Hyg., Camb. 1958 Rinderpest immunity in calves, I. The acquisition and persistence of maternally derived antibody* vol. 56,NO.4

3- Brjown R. D. , J. 1958 Rinderpest immunity in calves, II. active immunization. Hyg., Camb.

4- Brown R. D. 1965 Duration of rinderpest immunitr in cattle following vaccination with caprinised rinderpest virus Bull. epizoot. Dis Afr. 13, PP. 311-315

5- Sukemitsu Ishii, Goichi Tokuda & Morimatsu Watanabe 1964 Analysis of rinderpest virus antigeni. Results of the diffusion precipitation test in agar-gel Nationdl Institate of Animal Health Quaterly vol. 4, PP 205-213 Tokyo- Japan

6- Plowright W. , J. 1984 The duration of immunity in cattle following inoculation of rinderpest cell culture vaccine Hyg., Camb,. 92, PP 258-296

7- Provost par A., Maurice Y. et Borredon, 1969 Comportement clinique et immunologique, lors de contamination bovipestique, de bovins vaccines dequis plusieurs annees contre la peste bovine avec des vaccines de cultures cellulaires. Rev. Elev. Med. Vet. Poys Trop. 22, 4,PP, 453-464

8- Plowright W., & Taylor W. P. 1967. Long-term studies of the immunity in east African cattle following inoculation with rinderpest culture vaccine. Research in veterinary science, Vol, 8, No.1

9- Provost par A. , MAURICE Y., et Borredon C. 1968 Protection antipestique conferee aux bovins par le virus de la rougeole (*), Rev. Elev. Med. vet. poys trop., 21,2 PP(145-164).

10- Erling Norrby (Introducted by enders J, F,)1962 Hemagglutination by measles virus. 4 . A simple procedure for production of high potency antigen for hemagglutination - inhibition (HI) tests. proceeding of the society for experimental Biology and Medicine, Vol. 111

11- Erling Norrby. Archiv F. Hemagglutination by measles virus, I. The production of the hemagglutinin in tissue culture and the influence of different conditions on the hemagglutinating system Virusfoeschumg, Bd. XII. H. 2

12- Smith V. W., J. 1966 Active immunisation of calves with tissue- culture rinderpest vaccine. Comp. path. Vol. 76

13- Yamanouchi K., ; Fukuda A. et al 1969 Serologic response in monkeys inoculated with rinderpest and measles viruses Am. J. Vet. Res. , Vol. 30, No. 10

14- Kazuya Yamanouchi 1980 Comparative aspects of pathogenicity of measles, canine distemper, and rinderpest viruses Japanese Journal of Medical science and Biology Vol. 33, No. 2, PP. 41-66