

# کاربرد واکسن Reduced-dose S.19 در گاوهای بالغ

دکتر اسماعیل ذوقی، دکتر عبدالله عبادی، دکتر علی محمد بهروزخواه و دکتر مهران یاراحمدی - مؤسسه تحقیقاتی رازی

## چکیده

بدنبال بررسی تجربی اولیه تعیین دوز مناسب واکسن S.19 جهت گاوهای بالغ آبستن، واکسن S.19 با دوز  $3 \times 10^8$  جرم زنده دارای دو امتیاز می باشد:

۱- کاهش عیار سرمی ناشی از واکسن پس از مدت حداکثر ۶ ماه.

۲- مقاومت ۱۰۰٪ در مقابل چالش  $7 \times 10^7$  جرم سویه حاد B. abortus 544 جهت ایمن سازی گاوهای بالغ.

در تعیین طول دوره ایمنی ناشی از واکسیناسیون، طی دو مرحله یک و دو سال بعد از واکسیناسیون، مقاومت گاوها در مقابل سویه حاد مورد ارزیابی قرار گرفت. در این دو مرحله نیز ایمنی حاصله بترتیب با چالش  $2 \times 10^7$  و  $1/7 \times 10^7$  جرم، سویه 544 در مقایسه با گروه کنترل سنجیده شده و مقاومت ۱۰۰٪ گاوهای واکسینه به ثبت رسید. واکسن تولید شده جهت ایمن سازی گاوهای بالغ دو گاو داری صنعتی مورد مصرف قرار گرفت.

در گاو داری اول با تاریخچه محدود آلودگی مقطعی بروسلوز و تحت کنترل آن حدود ۲۰۰۰ رأس گاو شیری وارداتی پس از مشاهده نتیجه منفی آخرین آزمایش سرمی واکسینه شدند. هیچگونه خطر ناشی از استفاده واکسن وقوع نیافت، ضمن آنکه ماهیانه نمونه های شیر از نظر باکتریولوژیکی مورد آزمایش قرار گرفته و نتایج منفی گشت، ثبت گردید. در بررسی که ۶ ماه پس از واکسیناسیون انجام گرفت تنها حدود ۱٪ عیار ۲۱۲ واحد و ۳٪ عیار ۱۰۰ واحد بین المللی آنتی بادی را نشان دادند.

بنظر اطمینان از وضعیت گله، در دو نوبت به فاصله یک هفته از شیر تمامی گاوهایی که حتی اثر کمی از واکشن سرمی را نشان دادند نمونه برداری بعمل آمد و از نظر باکتریولوژی مورد ارزیابی قرار گرفتند که نتایج، بیانگر منفی بودن بروسلوز بود.

گاو داری دوم دارای سابقه چندین ساله آلودگی به بروسلوز و همچنین اعزام تعداد زیادی گاو مبتلا به کشتارگاه بود. در نوبت های مختلف آزمایش سرمی، پس از آخرین نمونه برداری از خون و شناسایی، ۷ رأس گاو آلوده، واکسینه گردیدند. در این گاو داری علاوه بر گاوهای وارداتی، تلیسه های تولید داخلی با واکسن S.19 در سن گوسالگی نیز تلقیح شدند. مجموعاً حدود ۸۰۰ رأس گاو واکسینه شدند که از بین آنها حدود ۴۰۰ رأس شیری بودند. پس از واکسیناسیون، نمونه برداری مرتب شیر در ابتدا طی چهار هفته متوالی و بعداً بطور ماهیانه انجام گرفته و بررسی باکتریولوژیکی صورت پذیرفت. در طی دوره ۵ ماهه پس از واکسیناسیون، ۳ رأس گاو از طریق بررسی شیر و ۲

رأس با سقط جنین به بروسلآ آلوده شناخته شده و به کشتارگاه اعزام شدند. ۶ ماه پس از واکسیناسیون در سرولوژی ۳۹۱ رأس گاو شیری، تنها ۳ مورد عیار ۲۱۲ واحد و ۸ مورد عیار بالای ۱۰۰ واحد آنتی بادی را نشان دادند. از شیر تمامی گاوها که حتی دارای کمترین اثر از واکشن سرمی بودند در سه نوبت هفتگی نمونه برداری بعمل آمد و از نظر باکتریولوژیکی بررسی شدند که نتایج از نظر بروسلوز منفی بودند.

با توجه به بررسیهای انجام شده، استفاده از واکسن Reduced-dose S.19 علاوه بر گاوهای حساس وارداتی، در گاو داریهایی که دچار مشکل بروسلوز و اصطلاحاً "Problem Herds" می باشند نیز توصیه می شود.

## مقدمه

در بررسی تجربی اولیه دوز  $3 \times 10^8$  جرم زنده واکسن S.19 با امتیازات کاهش عیار سرمی ناشی از واکسن پس از مدت حداکثر ۶ ماه، عدم ایجاد خطر سقط جنین و مقاومت ۱۰۰٪ در مقابل دوز  $7 \times 10^7$  جرم سویه حاد B. abortus 544 جهت ایمن سازی گاوهای بالغ آبستن پذیرفته شد. بعلاوه مصرف واکسن با دوز تعیین شده در مراحل مختلف آبستنی خطری نداشته، از طریق آغوز، شیر، جفت و ترشحات رحمی دفع نشده و اثرات سؤ بهداشت عمومی بدنبال نخواهد داشت.

بسمتور تعیین طول دوره ایمنی ناشی از واکسیناسیون طی دو مرحله بعدی مقاومت در مقابل سویه حاد سنجیده شد. در مرحله اول گاوهای واکسینه ۱۳ ماه پس از واکسیناسیون با دوز  $2 \times 10^7$  جرم سویه حاد 544 و در مرحله دوم ۲۴ ماه پس از واکسیناسیون با دوز B. abortus آلوده شدند. در هر دو مرحله گروه شاهد غیر واکسینه نیز با دوز مشابه آلوده شدند. با وجود اینکه از گشت بیش از ۹۰٪ غدد لنفاوی گروه شاهد با کتری بروسلآ جدا گردید، اما گاوهای واکسینه مقاومت ۱۰۰٪ را در هر دو مرحله نشان دادند.

واکسن لیوفیلیزه تولید شده در تابستان ۱۳۷۱، بوسیله سازمان دامپزشکی مورد استفاده قرار گرفت و به هزار رأس گاو آبستن وارداتی از کانادا تزریق گردید. گاوهای واکسینه با علامت (R.D) مخفف (Reduced dose) مشخص شده و پس از ۴ ماه نگهداری در قرنطینه به گاو داریها تحویل گردیدند.

همچنین در ارزیابی کارایی واکسن در شرایط طبیعی این واکسن در دو گاو داری صنعتی با سابقه بروسلوز، استفاده گردید. تعدادی از گاوهای مورد نظر در سن گوسالگی با دوز کامل واکسن (S.19) واکسینه شده بودند و بخشی دیگر برای اولین بار با واکسن (R.D) تلقیح گردیدند.

## مواد و روش کار

در این مطالعه یک گاو داری شامل حدود ۲۰۰۰ رأس گاو شیری متعلق به شرکت کشت و صنعت و دامپروری مغان وابسته به وزارت کشاورزی و یک گاو داری با حدود ۸۰۰ رأس گاو در آدران شهریار مورد بررسی قرار گرفتند. در هر دو گاو داری گاوهای با سنین مختلف آبستنی وجود داشته اند. گاوهای شرکت کشت و صنعت مغان تماماً در سن بلوغ از کانادا وارد شده و در گوسالگی واکسینه نشده بودند. حدود ۲۰۰ رأس از گاوهای گاو داری آدران شهریار، وارداتی و غیر واکسینه بوده و بقیه در سن گوسالگی واکسینه شده بودند.

گاو داری اول دارای تاریخچه ای از آلودگی محدود و مقطعی به بروسلوز بوده که تحت کنترل درآمده بود. گاوهای این گاو داری پس از آخرین آزمایش سرمی و مشخص شدن نتیجه منفی از نظر بروسلوز در بهمن ماه ۱۳۷۱ با واکسن R.D.S.19 تلقیح شدند.

در گاو داری دوم سابقه چندین ساله آلودگی به بروسلوز وجود داشته و تعداد زیادی از گاوهای مبتلا بعد از آزمایش های سرمی و شیر به کشتارگاه اعزام شده بودند. در آخرین نمونه برداری از خون این گاوها، ۷ رأس آلوده شناخته شدند که به کشتارگاه اعزام گردیده و بقیه در اسفند ماه ۱۳۷۱ واکسینه شدند.

واکسن لیوفیلیزه R.D. ساخت موسسه تحقیقاتی رازی در فلاکن های ۱۰۰ دوزی مورد استفاده قرار گرفت. هر فلاکن واکسن با ۱۰۰ میلی لیتر حلال (سرم فیزیولوژی) مخلوط شده و به هر رأس دام یک میلی لیتر بطریق زیر جلدی تزریق گردید. پس از واکسیناسیون نمونه برداری مرتب شیر در ابتدا طی چهار هفته متوالی و بعداً بطور ماهیانه انجام گرفت و بر روی آن بررسی واکشن های پادتنی و باکتریولوژیکی انجام شد.

۶ ماه پس از واکسیناسیون از تمامی گاوها خونگیری شد و از نظر سرولوژی مورد ارزیابی قرار گرفتند. پادکن های مصرفی ساخت موسسه تحقیقاتی رازی بوده و آزمایش های رزینگال، سرو آگلوتیناسیون، مرکاپتواتانول، ثبوت عناصر مکمل و آزمایش حلقه های شیر طبق روش استاندارد WHO انجام پذیرفت.

## نتیجه گیری

در آزمایش حلقه های شیر، واکشن پادتنی ناشی از واکسن در گاوها ۸۵٪ در هفته اول، ۹۰٪ در هفته دوم و بیش از ۹۵٪ در هفته های سوم و چهارم مشاهده گردید. در بررسیهای ماهیانه بعدی تدریجاً واکشن پادتنی شیر حذف شد، به طوریکه در ۳ ماه پس از واکسیناسیون بیش از ۷۰٪ گاوهای

Vaccination of heifers with a reduced dose of *Brucella abortus* strain 19 vaccine before first mating. Aust. Vet. J. 57: 548- 550.

4- Alton G. G. Corner L. A; and Plackett P. 1983, Vaccination of cattle against brucellosis using either reduced dose of strain 19 or one or two doses of 45/20 vaccine. Aust. Vet. J. 60: 175-177.

5- Alton G. G. Jones L. M. Angus R. D. and Verger J. M. 1988, Techniques for the brucellosis laboratory. Paris, INRA.

6- Brinley Morgan W. J. Mackinnon D. J. Gill K. P. W; Gower S. G. M. and Norris P. I. W. 1978, reprinted, 1981. Brucellosis diagnosis standard laboratory techniques. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London. MAFF publ. RVC 21.

7- Casmiro- Garcia Carrilo- 1980, A comparison between *Brucella melitensis* Rev. 1 and *Brucella abortus* S. 19 vaccines against brucellosis in cattle. Zentralblatt für veterinärmedizin Reihe B.

8- Corbel M. J. Gill K. P. W. and Thomas E. L. 1978, Methods for the identification of brucella. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London. MAFF publ. RVC 22.

9- Fujikura T. 1991, Perspectives of field vaccination in control of brucellosis. Symposium on brucella and brucellosis in man and animals. 24-26 Sep., Izmir, Turkey

10- Joint FAO/WHO expert committee on brucellosis. Sixth report, technical report series 740, W.H.O. Geneva

11- Nicoletti P; 1976, A preliminary report on the efficacy of adult cattle vaccination using strain 19 in selected dairy herds in Florida. Pro. US Anim. Health Assoc; 80: 91-106.

12- Nicoletti P; 1977, Adult vaccination. in: Bovine Brucellosis; an international symposium. Texas A M university press. College station, P. 201.

13- Nicoletti P; Jones L. M; and Berma D. T; 1978, Adult vaccination with standard and reduced doses of *Brucella abortus* strain 19 vaccine in a dairy herd infected with brucellosis. J. Am. vet. Med. Assoc; 173; 1445-1449.

14- Nicoletti P; 1989 - Bovine brucellosis. in: International symposium on brucellosis, 18-20 October, 1989, Istanbul. Pedic Anim. Dis. cntr. Res. Ins. Pub. No. 9.

15- Plackett P; Alton G. G; Carter P. D. and Corner L. A. 1980, Failure of a single dose of *Brucella abortus* strain 19 vaccine to protect cattle when given in calfhood. Aust. Vet. J. 5b, Sep. 409-412.

16- Plommet M. and Fensterbank R. 1984, La vaccination antibrucellique administrée par voie conjonctivale. Dev. Biol. Stad. 56: 681-687.

17- Plommet M; 1980, La vaccination conjonctivale par la brucellose bovine, principe et indications. Bull. soc. vet. prat. Fr; 64: 813- 823, 1980.

18- Plommet M; 1991, New animal vaccines. Symposium on brucella and brucellosis in man and animals, 24-2 Sep 6, Izmir, Turkey.

آمده و سرانجام کمیته کارشناسان بروسلوز (FAO/WHO) در ششمین اجلاس خود در سال ۱۹۸۶ استفاده از دوز کاهش یافته واکسن S. 19 به میزان  $3 \times 10^8$  -  $10^8$  جرم را جهت ایمن سازی گاوهای بالغ آبیستن توصیه نمود.

در بررسیهای مقدماتی تجربی در ایران دوز  $3 \times 10^8$  جرم زنده واکسن S.19 برای ایمن سازی گاوهای بالغ آبیستن با امتیازات چندی از جمله: کاهش عیار سرمی ناشی از واکسن در مدت زمان حداکثر ۶ ماه، مقاومت مناسب در مقابل دوز عفونی سویه حد *B. abortus* 544 و عدم خطر سقط جنین مورد قبول واقع شد. سرانجام واکسن به صورت لیوفیلیزه تولید و جهت ایمن سازی ۱۰۰۰ رأس تلیسه آبیستن غیر واکسینه وارداتی مورد استفاده قرار گرفت.

با ک سازی گله‌های آلوده به بروسلوز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده که به طور معمول با روش آزمایش / کشتار توأم با واکسیناسیون گوساله‌ها با دوز کامل واکسن S.19 صورت می‌گیرد. با وجود این علی‌رغم اقدامات مناسب اجرایی، در برخی گله‌ها ریشه کنی بیماری مشکل بوده و کم و بیش آلودگی در گاوها ادامه می‌یابد. چنین گله‌هایی اصطلاحاً "Problem herds" یا گله‌های دچار مشکل نامیده شده‌اند. یکی از روشهای تکمیلی جهت کنترل عفونت در این نوع گله‌ها استفاده از واکسن بوده و برای این منظور واکسن‌های مختلفی بکارگرفته شده‌اند. نظر به نقش غالب و مؤثر واکسن S.19 با دوز کاهش یافته در این زمینه، امروزه از این واکسن بسحد وسیعی در نقاط مختلف جهان جهت ایمن سازی گاوهای بالغ نیز استفاده می‌گردد.

نتایج حاصله از بررسی حاضر در ایران نیز بر تأثیر مناسب واکسن در پیشگیری و کنترل بیماری در گله‌های آلوده اشاره داشته و از این رو استفاده از واکسن Reduced dose S. 19 بویژه در گله‌های "Problem herds" علاوه بر گاوهای حساس وارداتی مورد توصیه می‌باشد.

### سپاسگزاری

بدینوسیله از مسئولین و کارکنان گاوآرداریهای کشت و صنعت مغان و آردان شهریار که همکاری صمیمانه داشته‌اند، سپاسگزاری می‌شود. همچنین زحمات مسئولین سازمان دامپزشکی کشور که امکان این بررسی را فراهم ساختند، موجب نهایت امتنان است. زحمات کلیه کارکنان بخش بروسلوز موسسه تحقیقاتی رازی در انجام امور تکنیکی نیز موجب قدردانی ویژه‌ای می‌باشد.

### منابع مورد استفاده

- 1- Alton G. G. Jones L. M. and Pietz D. E. 1975, Laboratory techniques in brucellosis, 2nd edition, W.H.O. Geneva
- 2- Alton G. G. Corner L. A. and Plackett P; 1980, Vaccination of pregnant cows with low doses of *Brucella abortus* strain 19 vaccine. Aust. Vet. J. 56: 369- 372
- 3- Alton G. G. and Corner L. A; 1981,

شیری فاقد پادتن واکسن در شیر بودند و ۵ ماه پس از واکسیناسیون موارد مثبت اندکی از آزمایش حلقه‌های شیر به ثبت رسید.

کشت نمونه‌های شیر گاوآرداری کشت و صنعت مغان در تمامی دوره ۶ ماهه از نظر بروسلوز منفی بوده است. از کشت نمونه‌های شیر گاوآرداری آردان شهریاری ۳ مورد بروسلا جدا گردید که دو مورد آن در ماه اول و یک مورد در ماه سوم پس از واکسیناسیون بوده است. از دو مورد سقط جنین این گاوآرداری که در ماههای سوم و پنجم پس از واکسیناسیون اتفاق افتاد عامل بروسلا جدا گردید. نمونه‌های بروسلا تایپینگ شده و سویه حد بیوتیپ *B. abortus* 3 که قبلاً نیز در این گاوآرداری شایع بوده تشخیص داده شد. از ماه پنجم به بعد مودی از آلودگی در این گاوآرداری مشاهده نشد.

در گاوهای شرکت کشت و صنعت مغان ۶ ماه پس از واکسیناسیون بررسی سرولوژی انجام شد که حدود ۱٪ عیار ۲۱۲ واحد و کمتر از ۳٪ عیار ۱۰۰ واحد بین‌المللی پادتنی را نشان دادند. به منظور اطمینان از وضعیت گله، دو هفته متوالی از گاوهای که دارای واکنش سرمی (حتی اندکی) بودند نمونه برداری شیر بعمل آمد و از نظر باکتریولوژیکی ارزیابی گردیدند که نتایج آن از نظر بروسلوز منفی شناخته شد. در این گاوآرداری مشکلی از نظر سقط جنین موجود نبوده و تمامی شواهد دلالت بر پاک بودن گله از نظر بروسلوز داشته است.

۶ ماه پس از واکسیناسیون در بررسی سرولوژی که در گاوآرداری آردان شهریاری به عمل آمد، از ۳۹۱ رأس گاو شیری تنها ۳ مورد عیار ۲۱۲ واحد و ۸ مورد عیار بالای ۱۰۰ واحد بین‌المللی پادتنی را نشان دادند. از تمام گاوهای که دارای پادتن (حتی اندک) در سرم بودند به مدت سه هفته نمونه برداری از شیر به عمل آمد و از نظر باکتریولوژیکی بررسی گردیدند که از لحاظ بروسلوز منفی بودند. در این گاوآرداری نیز سقط جنین بروسلاهی از ماه پنجم پس از واکسیناسیون اتفاق نیفتاده و به نظر میرسد که بیماری مهار شده است.

### بحث

استفاده از واکسن S. 19 جهت ایمن سازی گاوهای بالغ در شرایط طبیعی برای اولین بار در سال ۱۹۷۶ در ایالات متحده آمریکا بکار گرفته شد. در این بررسی Nicoletti بیش از ۱۰۰۰ رأس گاو شیری را در دوره آبیستی ۷ تا ۸ ماهگی با دوز کامل واکسن S.19 واکسینه نمود. میزان سقط جنین گله کاهش یافته، اما واکنش‌های سرولوژی بادوام باقی ماند. بعداً دوز واکسن به میزان یک‌گانه کاهش داده شده و با تولید ایمنی مشابه، مدت زمان دوام عیار سرمی نیز کوتاه گردید.

در سال ۱۹۸۰، پژوهشگران استرالیایی با کاهش دوز واکسن به مقادیر مختلف، گاوهای آبیستن را واکسینه نمود و نتیجه گرفتند که با جرم تقریبی  $3 \times 10^8$  سویه واکسن S.19 می‌توان ایمنی مناسب بدون دخالت در آزمایش‌های سرمی را بدست آورد. در بررسیهای بعدی نیز نتایج مشابهی بدست