AF ۵۰۹

تهیه واکسن بر علیه نماتودهای معدی روده‌ای دامها

● گردآوری از: دکتر غلامرضا معتمدی، عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقاتی رازی
● دکتر عبدالحسین دلیمی‌اصل، عضو هیأت علمی دانشکدهٔ علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

چکیده

امروزه یکی از مشکلات مهم در توسعه دامداریهای صنعتی، افزایش ابتلاء دامها به انگلهای دستگاه گوارش می‌باشد، معمولاً دامداران برای برطرف کردن این مشکل از درمان داروئی استفاده می‌کنند. ولی به علت ایجاد مقاومت کرمها نسبت به داروها و از طرفی ایجاد انگیزه برای بهینه‌سازی فعالیتهای کشاورزی اخیراً محققین به دنبال راههای دیگر مبارزه از جمله تهیهٔ واکسن بر علیه انگلها می‌باشند (۱).

در این مورد سه گروه از پژوهشگران استرالیایی در حال تهیه واکسنهایی بر علیه انگلهای هموئکوس، تریکوستروئزیلوس و استرتاژیا با استفاده از روش DNA نوترکیب می‌باشند. پادگنهای مختلف ایمنی‌زای شناخته شده را می‌توان به دو گروه زیر تقسیم نمود. ۱- پادگنهای کاملاً نمایان (پادگنهایی که در آلودگی طبیعی به وسیلهٔ سیستم ایمنی میزبان شناسایی می‌شوند. این پادگنها مشخص و در دسترس‌ترند و توان تحریک لنفوسیتها را دارا هستند و یک پاسخ ایمنی در بدن بر ضد این گونه اپی‌توپها به وجود می‌آید. واکسنهایی که از این پادگنها تهیه می‌گردند باعث افزایش ایمنی اکتسابی طبیعی می‌شوند). ۲-پادگنهای مخفی یا پنهان (پادگنهایی که در آلودگی طبیعی بوسیلهٔ سیستم ایمنی میزبان شناخته نمی‌شوند. این قسمتها در فرورفتگیها یا چینهای زنجیر پپتج و تاب خوردهٔ مولکول قرار دارند و لنفوسیتها نمی‌توانند با چنین قسمتهایی تماس حاصل نمایند، در نتیجه مورد شناسایی قرار نگرفته و پاسخ ایمنی بر علیه چنین قسمتهایی به وجود نخواهد آمد و باید با تکرار واکسیناسیون با این نوع پادگنها سطح ایمنی را ثابت نگه داشت) (۲). تا کنون پیشرفت رضایت‌بخش در ایجاد ایمنی (۹۰-۶۰٪) بر علیه انگلهای خونخوار (مانند هموئکوس و کنه‌ها) با استفاده از پادگنهای مخفی به دست آمده است، بدین ترتیب که تیتر بالای پادتن موجود در سرم میزبان اگر به وسیلهٔ انگلهای خونخوار بلع شود باعث مرگ آنها می‌شود (۱).

از آنجایی که پادگن‌های کاملاً نمایان علت اصلی دفع انگلهای مخاط خوار می‌باشند بیشتر تحقیقات بر شناخت جزئیات و نتیجه‌گیری مکانیسم ایمنی اکتسابی طبیعی متمرکز شده است تا بتوان این پادگنها را تهیه و استخراج نمود تا مطلوبترین اثر را داشته باشند (۲).

مقدمه

در سال ۱۹۹۲ در گردهمایی جامعه انگل‌شناسی بریتانیا امکان ساخت واکسن بر علیه نماتودهای دستگاه گوارش در دامهایی که از نظر اقتصادی اهمیت دارند مطرح گردید. این واکسنها بر علیه هموئکوس، استرتاژیا و تریکوستروئزیلوس می‌باشند (۲).

هموئکوس به وسیلهٔ بخش دهانی به مخاط شیردان چسبیده و خون می‌مکد.

لاروهای استرتاژیا (کرمهای کوچک قهوه‌ای رنگ معده) قبل از استقرار بر روی مخاط به داخل غدد معدی شیردان گاو و گوسفند نفوذ می‌کنند. تریکوستروئزیلوس‌ها (کرم عامل اسهال سیاه) در داخل مخاط، روی کانالهای سطح خملهای روده و دوازدهه زندگی می‌کنند. این انگلها دارای دورهٔ زندگی ساده شامل مراحل زندگی آزاد در مرتع (از تخم تالارو مرحلهٔ سوم) هستند، میزبان، لارو مرحله سوم عفونی را همراه با علوفه بلعیده و در لولهٔ گوارش میزبان به مراحل L۴ و L۵ و بالغ تکوین می‌یابد. این انگلها مرحلهٔ مهاجرت بافتی ندارند.

هزینهٔ کنترل این انگلها و خسارات اقتصادی ناشی از آنها در صنعت تولید گوشت و پشم بسیار بالا است برای مثال در صنعت پشم استرالیا سالانه حدود ۵۰۰ میلیون دلار می‌باشد (برآورد در سال ۱۹۹۰ به وسیلهٔ eSIRO) (۱ و ۲).

مشکلات عمده و جهانی نظیر مقاومت انگلها به داروهای ضد کرمی، خطر باقیماندن مواد شیمیایی در محیط زندگی و مواد غذایی بامنشأ دامی و تهیه داروهای جدید ضد انگلی انگیزهٔ اصلی تهیه واکسن بر علیه انگلها می‌باشد. اما صحبت از کاربرد واکسنها در پیشگیری بیماریهای انگلی تا ظهور تکنولوژی DNA نوترکیب، به علت محدودیتهای علمی و تکنیکی در تهیه مقادیر پادگن به عنوان یک واقعیت مطرح نبودند، در صورتی که در آینده نزدیک واکسنها قسمتی از برنامه‌های جامع کنترل کرمها را تشکیل خواهد داد و کاربرد این فرآورده‌ها به همراه مصرف صحیح دارو، مدیریت و اصلاح نژاد باعث طولانی‌تر شدن اثر داروهای ضد کرم خواهد شد و گله‌های شیرخوار، جوان و بسیار حساس در مقابل آلودگی مصون شده و این امر باعث کاهش آلودگی مرتع در فصول سال و کاهش آلودگی در نسلهای گوسفندان خواهد شد (۱و۲).

تشخیص و جداسازی پادگنهای ایمنی‌زا

طول بدن نماتودهای بالغ لولهٔ گوارش بین ۱-۳ میلی‌متر است. بر اساس وزن مولکولی، ترکیب پیچیدهٔ پادگنها و مکانیسم‌های شناخته شده ایمنی، چندین راه برای تشخیص اجزاء ایمنی‌زای پادگنها به کار گرفته می‌شود. البته روش به کار گرفته شده و راهی که باید پادگن را تشخیص و به نحوی استخراج و تولید کرد تا ایمنی‌بخش باشد اهمیت زیادی دارد. تلاشهای انجام شده بیشتر بر روی پادگنهای حاصل از مواد ترشحی - دفعی لارو مرحلهٔ سوم (L۳) و کرم بالغ که به مدت ۲۴-۷۲ ساعت در محیط کشت قرار داشته‌اند متمرکز بوده است. به علاوه عصاره‌های حاصل از کرمهای هموژنیزه نیز بخش دیگری از پادگنهاست (۴ و ۵).

برای تشخیص و تفکیک اجزائی که دارای بیشترین خاصیت ایمنی‌زایی هستند و سنجش پیچیدگی پاسخ ایمنی کلی میزبان، این عصاره‌ها و اجزاء ترشحی - دفعی انگلی، از چندین روش ایمونوشیمیایی مانند Affinity Chromatography و S.D.S page, Immunoprecipitation Immunobloting استفاده می‌شود (۲ و ۴ و ۵).

مواد حاصل از پاسخ ایمنی میزبان معمولاً پادگنهای هستند که از لنف یا سرم گوسفندان ایمن و یا از حیوانات مقاوم انتخاب شده از نظر ژنتیکی به دست می‌آیند. اخیراً با شناخت بیشتر از IgE گوسفند تحقیقات در مورد شناخت پادگنهای انگل به وسیلهٔ ایزوتیپهای پادتن افزایش یافته است (۲).

روش استفاده از پروتئاز مترشحه به وسیلهٔ ماست سلهای گوسفند برای تشخیص اجز آنتی‌ژنیک انگل یک روش تکمیل کنندهٔ ایمونوبلاتینگ می‌باشد. این ماده از ماست سلهای مخاطی گوسفند ایمن جدا می‌شود و به کمک آن پادگن را شناسایی می‌کنند. این آزمایش جایگزین آزمایش شولتز - دال (Schultz-Dale) که بر روی ایلئوم خوکچه‌های ایمن انجام می‌شد گردید. ارتباط بین عفونتهای نماتودی و افزایش IgE و ائوزینوفیل همراه با توانایی پادگن انگل در آزادسازی پروتئاز ماست سلها و هیستامین به عنوان عامل مهم دفع کرم مورد توجه است. بنابر این مسئولیت این پادگنها در ایجاد ایمنی می‌تواند با اهمیت باشد (۲).

دومین راه جدا سازی پادگن ایمنی‌زا شامل تجزیه و جداسازی بیوشیمیایی اجزاء مخلوط پادگن و آزمایشات واکسیناسیون به وسیلهٔ اجزاء جدا شده و نهایتاً بررسی ایجاد ایمنی حاصل از آنها است. مواد اصلی آزمایش شامل کرم کامل هموژنیزه، عصارهٔ نمکی یا عصارهٔ اندامها و یا لولهٔ گوارشی جدا شده از انگل می‌باشد و سپس باید بر روی میزبان اصلی و یا میزبان مدل (اگر هزینه و مقدار پادگن محدود نباشد). واکسیناسیون انجام شود. در این مطالعات از خوکچهٔ هندی برای جداسازی پادگنهای ایمنی‌زای انگلهای هموئکوس و تریکوستروئزیلوس استفاده شده است (۴ و ۵).

به دلیل اینکه در هر روشی انواع مختلف پادگن به دست می‌آید، به روشهای مختلف واکسیناسیون احتیاج می‌باشد. در روش اول حیوانات را به وسیلهٔ مرحلهٔ خاصی از انگل و یا انگل کامل آلوده ساخته و سپس مواد حاصل در حیوان ایمن مورد آزمایش قرار می‌گیرد. در این روش پادگنهای نمایان (مانند پادگنهای دفعی - ترشحی، آنزیمها و پادگنهای پیکرهٔ انگل) تأیید

جدول شمارهٔ ۱: پادگنهای خالص شده از نماتودهای لولهٔ گوارش و بررسی واکسن تهیه شده از آنها

نماتود	اجزاءجداشده (مرحله‌ای)	وزن مولکولی کیلودالتن	پادگن اثر نوترکیب	آزمایشات‌واکسن(درصدایمنی)برروی کرمها	تخمها	میزبان مورد آزمایش
T. colubriformis	تروپومیوزین (L_3)	۴۱	+	۵۱-۴۳	-	خوکچه هندی
	میوزین (L_3)	۲۰۰	-	-	-	-
	آکتین (L_3)	۴۳	-	-	-	-
	مایع‌خروجی‌ازغلاف (L_3)	۹۴	-	کمتر از ۵۰ درصد	کمتر از ۵۰ درصد	خوکچه‌هندی
	پادگن‌دفعی-ترشحی (کرم بالغ)	۱۱، ۱۷، ۳۰، ۳۷	++	کمتر از ۵۰ درصد	۳۰-۶۰ درصد	گوسفند
	گلوتاتیون S-ترانسفراز (L_3)	۳۸	-	کمتراز۱۰درصد	کمتر از ۱۰ درصد	خوکچه‌هندی
H. contortus	مایع‌خروجی‌ازغلاف (L_3)	متفاوت	-	۲/۶۶	۴۶-۶۶ درصد	گوسفند
	پروتئاز (L_3)	۴۴	-	-	-	-
	پروتئاز (بالغ	۳۵	فاقداطلاعات	-	-	گوسفند
	گلوتاتیون S-ترانسفراز (L_3)	۲۸	-	کمتراز۱۰درصد	کمتر از ۱۰ درصد	خوکچه‌هندی‌و گوسفند
	توبولین(L_3)	۵۵-۵۳	-	-	-	-
	تروپومیوزین (L_3)	۴۱	+	۵۴ درصد	۴۶ درصد	گوسفند
	H_{11} (بالغ)	۱۱۰	-	بیشتراز۸۰درصد	بیشتر از ۸۰ درصد	گوسفند
	کلاژن	-	-	کمتراز۱۰درصد	کمتر از ۱۰ درصد	گوسفند
O. circumcincta	پادگن‌ترشحی-دفعی (L_3)	۳۱	-	۵۸ درصد	کمتر از ۵۰ درصد	گوسفند
Oes. radiatum	پادگن‌ترشحی-دفعی (L_3)	متفاوت	-	۹۹ درصد	۷۵ درصد	گوساله

شده‌اند. انتظار می‌رود که مکانیزم پاسخهای ایمنی در این نوع واکسیناسیون شبیه پاسخ ایمنی میزبان، هنگام آلودگی طبیعی باشد و مصونیت حاصل به صورت مصونیت مخاط روده‌ای است (۱ و ۲).

راه دوم واکسیناسیون، استفاده از کرمها یا اندامهای هموژن شده است. این واکسنها وقتی به شکل آلودگی طبیعی مصرف شدند پاسخ ایمنی یا ناچیز است و یا اصلاً پاسخی ایجاد نمی‌شود. اما وقتی این پادگنها به صورت هموژن به میزبان تزریق شدند ممکن است ایمنی‌زا گردند. به این نوع پادگنهای، مخفی یا پنهان می‌گویند. این پادگنها به وسیلهٔ سلولهای حساس شده میزبان و یا پادتنهای تولید شده، هنگام واکسیناسیون قابل شناسایی هستند. با آزمایشات انجام شده هر دو دسته پادگن (نمایان و مخفی) شناسایی شده‌اند (جدول شمارهٔ ۱) (۱ و ۲).

مشخص‌ترین ایمنی به وسیلهٔ پادگنهای مخفی در واکسنها بر علیه انگلهای خونخوار (مانند همونکوس و کنه‌ها) مشاهده شده است. در حیوانات ایمن شده با پادگنهای BM_{86} روده کنه یا H_{11} هموئکوس و یا تروپومیوزین تروپومیوزین ماهیچه‌ای این انگل، تیتر پادتن در خون بالا می‌رود و خوردن این گونه خونها به وسیلهٔ انگل باعث اختلاف در بلع، تولیدمثل، حرکت و نهایتاً مرگ آن می‌گردد (۲ و ۵).

روش تولید واکسن بر علیه نماتودها

اولین واکسن موفق بر ضد نماتود با لارو مرحلهٔ سوم (L_3) تخفیف حدت یافته به وسیلهٔ اشعهٔ X بر علیه *Dictyoculus viviparous* (کرم ریه گاو) ساخته شده است. با همین روش برای ایمن‌سازی گوسفند واکسنهایی با لارو عفونی تریکوسترونژیلوس و همونکوس ساخته شده و در بره‌های با سن بیش از ۶ ماه دو تزریق واکسن حاوی 10^4 لارو عفونی ایجاد مصونیت کرده است که ایمنی همولوگ حدود ۸۰ درصد و ایمنی متقاطع ۳۰-۳۵ درصد گزارش شده است. اما به دلیل اینکه از طرفی تهیه پادگن کافی و مناسب به وسیلهٔ کشت انگل در محیط مصنوعی (in vitro) به علت مشکلات کشت انگل امکان‌پذیر نیست و به علاوه تهیهٔ پادگن از حیوان آلوده به انگل از نظر اقتصادی به صرفه نیست (یعنی برای تهیه یک دز واکسن معمولاً احتیاج به کشتن سه گوسفند به منظور جداسازی انگل از بدن حیوان می‌باشد)[۲]، و از طرف دیگر به علت مشکلات حمل و نقل، نگه‌داری و بقاء واکسن اشعه دیده و مقدار آن، برای تولید انبوه پادگن باید به تکنیکهای ساخت مصنوعی و یا DNA نوترکیب[۳] مجهز شد. اگر چه ثابت شده است که از نظر تکنیکی استفاده از روش DNA نوترکیب مستلزم داشتن و اطلاعات کافی برای بیان پادگن نوترکیب حاوی این توپهای ایمن‌زا می‌باشد و باید این پادگنهای نوترکیب دارای ساختمان مولکولی شبیه مولکولهای طبیعی انگل باشند تا بر علیه عفونت کرمی ایمن‌زا گردند.

مشکلات موجود برای هر پادگن شامل به حداکثر رساندن و خالص‌سازی محصولات بیان شده است. اما با وجود مشکلات موجود پیشرفتهای مهمی در جداسازی کلاژن، توبولین[۴]، کلون کردن آنزیمها و چند پادگن دیگر از انگلهای *H. contortus*، *T. colubriformis*، *O. circumcincta* انجام گرفته است (جدول شمارهٔ یک).

به علاوه تهیهٔ پادگنهای ایمنی‌زای آنالوگ برای انگلهای گاو (مانند *H. placei*، *O. ostertagi*)، به وسیلهٔ هیبریداسیون ژنتیکی به کمک مهندسی ژنتیک در حال مطالعه می‌باشد (۲ و ۳ و ۵).

هدف ایمونولوژیکی از واکسنها

مکانیزم حاصل از واکسنهای حاوی پادگنهای نمایان باید شبیه مکانیزم ایمنی در آلودگی طبیعی باشد. در نتیجه شناخت و تنظیم این مکانیزمها برای تخلیص و تولید دقیق واکسنها یک عامل مورد نیاز و ضروری است (۱).

الف: اپیدمیولوژی و ایمنی گله در آلودگی طبیعی

ایمنی بر علیه اکثر نماتودهای گوارشی چندین ماه پس از آلودگی به وجود می‌آید و معمولاً همراه با ۱- دفع لارو عفونی خورده شده، ۲- تأخیر در رشد و تکامل لارو، ۳- تأخیر در بلوغ انگل و ۴- دفع کرم بالغ است. از نظر کلینیکی مقدار ایمنی و سرعتی که ایمنی ایجاد می‌شود بستگی به میزان لارو عفونی بلعیده شده و سن، جنس، گونه و نژاد میزبان دارد. اثر ژنتیکی نیز در ایجاد ایمنی دخالت دارد به طوری که در بعضی از گله‌ها مقاومت سریع‌تری به وجود می‌آید یعنی پاسخ ایمنی در گله زودتر و یا بیشتر از گله دیگر است. این حقیقت در گوسفند مرینوس پس از واکسیناسیون با لارو اشعه دیده و سپس بردن بره‌های جوان به چراگاه آلوده مطالعه شده است و مبنای کوششهای جاری در تشخیص مارکرهای ژنتیکی برای شناخت و انتخاب گله‌ایی مقاوم می‌باشد. در حالی که اختلافات بین نژادی شامل مقاومت ذاتی در اولین برخورد با آلودگی می‌باشد، اختلافات درون نژادی سرعت ایجاد ایمنی را معین می‌کند. در شرایط آب و هوای مختلف (بخصوص دما) گونه‌های گونا گون نماتود دیده می‌شود در مناطقی که باران و دمای معتدل وجود دارد بیشترین لارو عفونی (L_3) معمولاً در بهار و پاییز در مرتع وجود دارد که با دورهٔ بره‌زایی همزمان است. به علاوه این افزایش لاروی همزمان با پدیده کاهش ایمنی قبل از زایمان که در میشها اتفاق می‌افتد بوده و نتیجتاً باعث افزایش تخم و آلودگی بیشتر در مرتع می‌گردد. در نتیجه گله‌های جوان که هنوز سطح ایمنی بدنشان زیاد نشده و از نظر کلینیکی نسبت به آلودگی کرمی حساس هستند در معرض تعداد بی‌شماری لاروهای عفونی در چراگاه قرار می‌گیرند. ظاهراً این حساسیت با کاهش وزن بدن شدت و نیاز به مواد غذایی برای تولید بیشتر افزایش می‌یابد و احتمالاً با دیگر عفونتها در اثرگذاری بر روی سیستم ایمنی میزبان رقابت می‌کنند (۲).

ب: مکانیزم دفع انگل

از نظر ایمنی ذاتی و اکتسابی در میزبانهای آلوده با هر گونه انگل معدی - روده‌ای، مکانیزم پاسخ ایمنی مشابهی وجود دارد. به عبارت کلی، این پاسخها شامل افزایش حرکت موجی (دودی) روده، کاهش pH، سد

جدول شمارهٔ ۱: پادگنهای خالص شده از نماتودهای لولهٔ گوارش و بررسی واکسن تهیه شده از آنها

نماتود	اجزاءجداشده (مرحله‌ای)	وزن مولکولی کیلودالتن	پادگن نوترکیب	اثرآزمایشات‌واکسن(درصدایمنی)برروی کرمها	اثرآزمایشات‌واکسن(درصدایمنی)برروی تخمها	میزبان مورد آزمایش
T. colubriformis	تروپومیوزین (L_3)	۴۱	+	۵۱-۴۳	-	خوکچه هندی
	میوزین (L_3)	۲۰۰	-	-	-	-
	آکتین (L_3)	۴۳	-	-	-	-
	مایع‌خروجی‌ازغلاف (L_3)	۹۴	-	کمتر از ۵۰ درصد	کمتر از ۵۰ درصد	خوکچه‌هندی
	پادگن‌دفعی-ترشحی (کرم بالغ)	۱۱، ۱۷، ۳۰، ۳۷	++	کمتر از ۵۰ درصد	۳۰-۶۰ درصد	گوسفند
	گلوتاتیون *S*-ترانسفراز (L_3)	۳۸	-	کمتراز ۱۰درصد	کمتر از ۱۰ درصد	خوکچه‌هندی
H. contortus	مایع‌خروجی‌ازغلاف (L_3)	متفاوت	-	۲/۶۶	۴۶-۶۶ درصد	گوسفند
	پروتئاز (L_3)	۴۴	-	-	-	-
	پروتئاز (بالغ	۳۵	فاقداطلاعات	-	-	گوسفند
	گلوتاتیون	۲۸	-	کمتراز ۱۰درصد	کمتر از ۱۰ درصد	خوکچه‌هندی‌و
	S-ترانسفراز (L_3)					گوسفند
	توبولین(L_3)	۵۵-۵۳	-	-	-	-
	تروپومیوزین (L_3)	۴۱	+	۵۴ درصد	۴۶ درصد	گوسفند
	H_{11} (بالغ)	۱۱۰	-	بیشتراز ۸۰درصد	بیشتر از ۸۰ درصد	گوسفند
	کلاژن	-	-	کمتراز ۱۰درصد	کمتر از ۱۰ درصد	گوسفند
O. circumcincta	پادگن‌ترشحی-دفعی (L_3)	۳۱	-	۵۸ درصد	کمتر از ۵۰ درصد	گوسفند
Oes. radiatum	پادگن‌ترشحی-دفعی (L_3)	متفاوت	-	۹۹ درصد	۷۵ درصد	گوساله

شده‌اند. انتظار می‌رود که مکانیزم پاسخهای ایمنی در این نوع واکسیناسیون شبیه پاسخ ایمنی میزبان، هنگام آلودگی طبیعی باشد و مصونیت حاصل به صورت مصونیت مخاط روده‌ای است (۱ و ۲).

راه دوم واکسیناسیون، استفاده از کرمها یا اندامهای هموژن شده است. این واکسنها وقتی به شکل آلودگی طبیعی مصرف شدند پاسخ ایمنی یا ناچیز است و یا اصلاً پاسخی ایجاد نمی‌شود. اما وقتی این پادگنها به صورت هموژن به میزبان تزریق شدند ممکن است ایمنی‌زا گردند. به این نوع پادگنهای، مخفی یا پنهان می‌گویند. این پادگنها به وسیلهٔ سلولهای حساس شده میزبان و یا پادتنهای تولید شده، هنگام واکسیناسیون قابل شناسایی هستند. با آزمایشات انجام شده هر دو دسته پادگن (نمایان و مخفی) شناسایی شده‌اند (جدول شمارهٔ ۱) (۱ و ۲).

مشخص‌ترین ایمنی به وسیلهٔ پادگنهای مخفی در واکسنها بر علیه انگلهای خونخوار (مانند همونکوس و کنه‌ها) مشاهده شده است. در حیوانات ایمن شده با پادگنهای BM_{86} روده کنه یا H_{11} همونکوس و یا تروپومیوزین تروپومیوزین ماهیچه‌ای این انگل، تیتر پادتن در خون بالا می‌رود و خوردن این گونه خونها به وسیلهٔ انگل باعث اختلاف در بلع، تولیدمثل، حرکت و نهایتاً مرگ آن می‌گردد (۲ و ۵).

روش تولید واکسن بر علیه نماتودها

اولین واکسن موفق بر ضد نماتود با لارو مرحلهٔ سوم (L_3) تخفیف حدت یافته به وسیلهٔ اشعهٔ X بر علیه *Dictyoculus viviparous* (کرم ریه گاو) ساخته شده است. با همین روش برای ایمن‌سازی گوسفند واکسنهایی با لارو عفونی تریکوسترونژیلوس و همونکوس ساخته شده و در بره‌های با سن بیش از ۶ ماه دو تزریق واکسن حاوی 10^4 لارو عفونی ایجاد مصونیت کرده است که ایمنی همولوگ حدود ۸۰ درصد و ایمنی متقاطع ۳۰-۳۵ درصد گزارش شده است. اما به دلیل اینکه از طرفی تهیه پادگن کافی و مناسب به وسیلهٔ کشت انگل در محیط مصنوعی (in vitro) به علت مشکلات کشت انگل امکان‌پذیر نیست و به علاوه تهیهٔ پادگن از حیوان آلوده به انگل از نظر اقتصادی به صرفه نیست (یعنی برای تهیه یک دز واکسن معمولاً احتیاج به کشتن سه گوسفند به منظور جداسازی انگل از بدن حیوان می‌باشد)[۲]، و از طرف دیگر به علت مشکلات حمل و نقل، نگه‌داری و بقاء واکسن اشعه دیده و مقدار آن، برای تولید انبوه پادگن باید به تکنیکهای ساخت مصنوعی و یا DNA نوترکیب[۳] مجهز شد. اگر چه ثابت شده است که از نظر تکنیکی استفاده از روش DNA نوترکیب مستلزم داشتن و اطلاعات کافی برای بیان پادگن نوترکیب حاوی این توپهای ایمن‌زا می‌باشد و باید این پادگنهای نوترکیب دارای ساختمان مولکولی شبیه مولکولهای طبیعی انگل باشند تا بر علیه عفونت کرمی ایمن‌زا گردند.

مشکلات موجود برای هر پادگن شامل به حداکثر رساندن و خالص‌سازی محصولات بیان شده است. اما با وجود مشکلات موجود پیشرفتهای مهمی در جداسازی کلاژن، توبولین[۴]، کلون کردن آنزیمها و چند پادگن دیگر از انگلهای *H. contortus*، *T. colubriformis*، *O. circumcincta* انجام گرفته است (جدول شمارهٔ یک).

به علاوه تهیهٔ پادگنهای ایمنی‌زای آنالوگ برای انگلهای گاو (مانند *H. placei*، *O. ostertagi*)، به وسیلهٔ هیبریداسیون ژنتیکی به کمک مهندسی ژنتیک در حال مطالعه می‌باشد (۲ و ۳ و ۵).

هدف ایمونولوژیکی از واکسنها

مکانیزم حاصل از واکسنهای حاوی پادگنهای نمایان باید شبیه مکانیزم ایمنی در آلودگی طبیعی باشد. در نتیجه شناخت و تنظیم این مکانیزمها برای تخلیص و تولید دقیق واکسنها یک عامل مورد نیاز و ضروری است (۱).

الف: اپیدمیولوژی و ایمنی گله در آلودگی طبیعی

ایمنی بر علیه اکثر نماتودهای گوارشی چندین ماه پس از آلودگی به وجود می‌آید و معمولاً همراه با ۱- دفع لارو عفونی خورده شده، ۲- تأخیر در رشد و تکامل لارو، ۳- تأخیر در بلوغ انگل و ۴- دفع کرم بالغ است. از نظر کلینیکی مقدار ایمنی و سرعتی که ایمنی ایجاد می‌شود بستگی به میزان لارو عفونی بلعیده شده و سن، جنس، گونه و نژاد میزبان دارد. اثر ژنتیکی نیز در ایجاد ایمنی دخالت دارد به طوری که در بعضی از گله‌ها مقاومت سریع‌تری به وجود می‌آید یعنی پاسخ ایمنی در گله زودتر و یا بیشتر از گله دیگر است. این حقیقت در گوسفند مرینوس پس از واکسیناسیون با لارو اشعه دیده و سپس بردن بره‌های جوان به چراگاه آلوده مطالعه شده است و مبنای کوششهای جاری در تشخیص مارکرهای ژنتیکی برای شناخت و انتخاب گله‌ایی مقاوم می‌باشد. در حالی که اختلافات بین نژادی شامل مقاومت ذاتی در اولین برخورد با آلودگی می‌باشد، اختلافات درون نژادی سرعت ایجاد ایمنی را معین می‌کند. در شرایط آب و هوای مختلف (بخصوص دما) گونه‌های گونا گون نماتود دیده می‌شود در مناطقی که باران و دمای معتدل وجود دارد بیشترین لارو عفونی (L_3) معمولاً در بهار و پاییز در مرتع وجود دارد که با دورهٔ بره‌زایی همزمان است. به علاوه این افزایش لاروی همزمان با پدیده کاهش ایمنی قبل از زایمان که در میشها اتفاق می‌افتد بوده و نتیجتاً باعث افزایش تخم و آلودگی بیشتر در مرتع می‌گردد. در نتیجه گله‌های جوان که هنوز سطح ایمنی بدنشان زیاد نشده و از نظر کلینیکی نسبت به آلودگی کرمی حساس هستند در معرض تعداد بی‌شماری لاروهای عفونی در چراگاه قرار می‌گیرند. ظاهراً این حساسیت با کاهش وزن بدن شدت و نیاز به مواد غذایی برای تولید بیشتر افزایش می‌یابد و احتمالاً با دیگر عفونتها در اثرگذاری بر روی سیستم ایمنی میزبان رقابت می‌کنند (۲).

ب: مکانیزم دفع انگل

از نظر ایمنی ذاتی و اکتسابی در میزبانهای آلوده با هر گونه انگل معدی - روده‌ای، مکانیزم پاسخ ایمنی مشابهی وجود دارد. به عبارت کلی، این پاسخها شامل افزایش حرکت موجی (دودی) روده، کاهش pH، سد

اپیتلیال، التهاب کانونی، گرفتاری مخاط، پاسخهای هـمورال و سـلولی، پـاسخهای عـصبی و هـمچنین پاسخهای همورال سیستمیک می‌باشد. ولی اهمیت هر کدام از عوامل ذکر شده در دفع انگل نسبت به گونهٔ انگل متفاوت است. برای مثال انگلهای خونخوار مانند هـمونکوس از پـادگنهای گـردشی (سیستم هـمورال) مـتأثر مـی‌گردند و نـماتودهای مـخاط خـوار مـانند تریکوسترونژیلوس، پاسخهای ایمنی در مقابل آنها به صورت کانونی است. هنوز مکانیزمهای ایمنی مؤثر بر عـلیه نـماتودهای مـعدی - روده‌ای کـاملاً شـناخته نشده‌اند و تا کنون یک مکانیزم مناسب که توضیح دهنده ایجاد ایمنی باشد پیدا نشده است. یـعنی مـمکن است ایمنی عملاً به وسیلهٔ چـندین مکـانیزم مـختلف ایـجاد شود. با این وجود عملاً اطلاعات زیادی در مورد پاسخ ایمنی که لازمهٔ دفع نماتودهاست وجود دارد. دفع انگل به وسیلهٔ گوسفند ایمن یک پـدیده پـیچیده است و بـا آزمایش چالنج مشخص شده است که دارای دو یا چند مرحله می‌باشد. اولین مرحله به نام واکنش دفع سریع[5] است و در این مرحله لارو عـفونی (L۳) هـمونکوس حدود ۳۰ دقیقه پس از تلقیح به داخل شیردان و لارو (L۳) فاقد پوشش تریکوسترونژیلوس حدود ۴ ساعت پس از تـلقیح از راه پـیلور از روده ۱۵ مـتری خـارج مـی‌شوند. بـر عکس گـوسفند ایـمن شـده بـا *T. colubriformis* بالغ اکثر لاروهای مرحلهٔ سوم این انگل را پس از دو هفته از آلودگی دفع می‌کند. در دفع سریع بعضی واکنشهای متقاطع نیز وجـود دارد. بـرای مثال طبق مطالعات انجام شده در گوسفند ایمن شده با *H. contortus* وقـتی در مـعرض آلودگـی *T. colubriformis*، *H. contortus* و *Nematadirus spathiger* قـرار گـرفت تـمام انگـلها دفـع شـدند، در صورتی که گوسفند ایمن شده بـا تـریکوسترونژیلوس هیچ گونه اثری بر نماتودهای شیردان نداشت و اثر آن در قسمت پایین روده بوده است این موضوع نمایانگر تشخیص پادگن اختصاصی انگل می‌باشد (۲ و ۳ و ۴).

افزایش پروتئاز ماست سلها در محتویات دوازدهٔ گوسفند ایمن شده، یک روز پس از آزمایش چالنج با لارو مرحله سوم تریکوسترونژیلوس و ازدیـاد هـمین ماده در لنف معدهٔ حیوان ایمنی شده، ۱-۳ روز پس از آزمایش چالنج با لارو همونکوس و ترشح مواد واسطه التهابی بـه وسـیلهٔ مـاست سـلهای مـخاطی، نـمایانگر دخالت عمده این ماده در واکنش دفع سـریع است. شرکت ماست سلهای مخاطی در واکنش آنافیلاکسی و آسم با قراردادن ماست سـلهای مـخاطی جـدا شـده از گوسفند ایمن شـده بـه وسـیلهٔ عـصاره‌های انگـلهای *T. vitrinis, H. contorlus, T. colubriformis* و *O. circumcincta* و پـــادگن نـــوترکیب *T. colubriformis* و *H. contortus* در محیط مصنوعی و نتیجتاً یا در معرض قراردادن پادگن این انگلها باعث ترشح پروتئاز ماست سـلهای گـوسفند مـی‌گردد. ایـن گـونه تـخلیه گـرانـول سـلولی در بـرگیرندهٔ دخـالت پـادتنهای سـلول گـرا مـانند IgE مـی‌باشد. ایـجاد پادتن‌های سلول گرا (راژنهای IgE) که شکل شـناخته شدهٔ فعل و انفعالات ایمنی نسبت به عفونتهای کـرمی در گوسفند است اجازه تحقیق در مورد نـظریه کـنترل انگلها به وسیلهٔ پاسخ ماست سلها را می‌دهد، و وجـود هر دو ایمونوگلوبولین IgG و IgE روی ماست سلهای مخاطی تأیید شده‌اند. چـون یک روز پس از آزمـایش چـالنج در گـوسفند ایـمن بـا لارو مـرحـلهٔ سـوم تـریکوسترونژیلوس افـزایش غـلظت IgG_1 و IgG_2 اختصاصی کرم در مخاط مشاهده شده است در نـتیجه پاسخ ماست سلهای مخاطی باعث نفوذ پادتن به داخل لوله گوارش می‌شود (۱ و ۲).

علاوه بر موارد بالا شواهد بافت شناسی مـبنی بـر دخالت ماست سلهای مخاطی نیز وجـود دارد، مـقدار مـاست سـلهای مـخاطی و گـلبولهای لوکـوسیت (گلبولهای مشتق شده از ماست سلها) ۵-۶ هفته بعد از عـفونت اولیـه بـا هـمونکوس و تـریکوسترونژیلوس افزایش می‌یابد و تعداد ماست سلهای مخاطی و مقدار ماده ممانعت کنندهٔ فعالیت مهاجرت لاروی بـا تـعداد تخم تریکوسترونژیلوس دفع شونده در میزبان آلوده به این انگل از ۶-۸ هفته بعد از آلودگی نسبت عکس دارد. این نتایج نشان می‌دهد که ماست سلهای مخاطی باعث فراهم شدن شرایط نامساعد محیط لوله گـوارش بـرای انگل و نهایتاً دفع تـریکوسترونژیلوس بـالغ مـی‌گردد. افـزایش کـانونی تـعداد مـاست سـلهای مـخاطی و لوکوسیت‌ها در حیوان ایمن شده نسبت بـه گـونه‌های تریکوسترونژیلوس، استرتاژیا، هـمونکوس تـوصیف شده است هر چند که تجمع ائوزینوفیلها متغیر است و ممکن است بیشتر وجود انگلها را منعکس کند (۲ و ۵).

دومین مرحله دفع انگل به وسیلهٔ میزبان ایـمن بـا تـریکوسترونژیلوس بـین ۵-۱۰ روز پس از آلودگی اتفاق می‌افتد و شـامل واکـنشهای مشـخص التـهابی و پاسخهای ایمنی ثانویه می‌باشد. در این مرحـله پـادتن اختصاصی از تمام ایزوتیپهای قـابل تشـخیص (مـانند IgG_2، IgG_1، IgM، IgA) و پـروتئاز مـاست سـلهای مخاطی گوسفند در مخاط دوازدهه بر علیه کرم افزایش می‌یابد. غلظت پادتنهای اختصاصی سرم در پـاسخ بـه پادگنهای اختصاصی کرم به وسیلهٔ لنفوسیتهای خـونی افـــزایش مـی‌یابد. در اپـیتلیوم، تـعداد گـلبولهای لوکـوسیتی، سـلولهای $CD8^+$، لنـفوسیتهای TCR افزایش می‌یابد و بعد از آن نکروز و جدا شدن اپیتلیوم و خـملها دیـده مـی‌شود. در لایـهٔ هـمبند مـخاطی[6] (لامیناپروپریا) سلولهای T از تمام فنوتیپها، سـلولهای B، سـلولهای دنـدریتیک $CD1^+$، فـیبرهای عـصبی $CD56^+$ و آنـولاز اخـتصاصی نـرون عـصبی[7] افـزایش می‌یابد. در لنـف مـزانـتر افـزایش لنـفوبلاستها، پـادتن اختصاصی انگل (بخصوص IgA)، لنفوسیتهای واکنش کننده یا پادتن و RNA پیغام‌بر مخصوص اینترلوکین[8] (IL_3) و فـاکـتور فـعال کـننده کـلنی مـاکـروفاژ - گرانولوسیت نمایانگر ایجاد پاسخ ایمنی ثانویه می‌باشد (۲ و ۴).

در بررسیهای انجام گرفته مشخص شده است کـه در آلودگیهای مجدد پاسخ ایمنی ثانویه افزایش یافته و باعث دفع بیشتر انگل مـی‌شود در حـالی کـه اثـر دفـع سـریع بـا گـذشت زمـان کـاهش مـی‌یابد. مـحققین در مطالعات جدید بر روی مکانیسم ایمنی به دنبال یافتن دلیل واضح برای نقش هـر کـدام از پـاسخهای بـالا در ایجاد ایمنی هستند. برای این منظور دو روش در حـال بررسی است اول، انتقال پاسخ ایمنی به حیوان حساس است در این روش نشان داده شده است کـه ایـمنی بـر علیه *H. contortus* و *O. circumcinta* مـی‌توانـد بـه وسیلهٔ لنفوسیتها و لنفوبلاستها انـتقال یـابد امـا انـتقال ایمنی به وسیلهٔ ایمونوگلبولینهای جدا شده از حیوان با آلودگی طبیعی ناموفق بوده است.

روش دوم حذف یک پاسخ ایمنی در حیوان زنده هنگام برخورد اولیه یا ثانویه با آلودگی است. برای مثال تـزریق مـونوکلونال آنـتی‌بادی بـر عـلیه $CD4$، $CD8$، Wc_1، TCR یا اینترفرون حیوان ایمن هیچ گونه اثـری در دفـع لارو تـریکوسترونژیلوس نـداشت. هـمچنین حذف سلولهای T دارای مارکر Wc_1 در گوسفند ایمن در دفع استرتاژیا بـی‌اثـر بـوده است. در حـالی کـه در بره‌های مقاوم به هـمونکوس پس از این که آلوده به انگل شدند و شروع به دفع انگل کردند هنگامی که پادتن ضد $CD4$ به آنها تزریق شد بـاعث کـاهش قـدرت دفـع در حیوان گردید. ظاهراً حیوانات نسبتاً حساس نـیاز بـه فعالیت بیشتر سلولهای T کمک کننده برای دفـع انگـل دارند و افـزایش فـعالیت سـلولهای T کـمک کـننده در مـرحـله دوم یـعنی ۵-۱۰ روز پس از چـالنج اتـفاق می‌افتد. اکنون مطالعات برای بررسی اثـر کـاهش زیـر مـجموعه‌های سـلولهای T، سـیتوکین‌ها، ایـزوتیپهای پادتن و ماست سلها در تولید ایمنی هنگام عفونت اولیه با تریکوسترونژیلوس در حال انـجام است و مـثالهای ایمونولوژیکی اخیر بـرای تـفکیک نـقش لنـفوسیتهای کـــمک‌کـــننده H_1 و H_2 در عـفونتهای کـرمی در نشـخوارکـنندگان بـاید بـیشتر آزمـایش و بـررسی شوند (۲).

ایجاد پاسخهای ایمنی به وسیلهٔ واکسیناسیون

گر چه بعضی از اهـداف واکسیناسیون بـه طـور ناقص بیان شده‌اند اما یک واکسن مناسب برای تأمـین ایـمنی بـر عـلیه نـماتودهای خـونخوار لولهٔ گـوارش واکسنی است که بتواند مقدار ایمونوگلبولینهای IgG_1 و IgG_2 اختصاصی نسبت به پادگن پنهان و مـخفی در سـرم میـزبان را افـزایش و ثـابت نگـه دارد. ایـن گـونه واکسنها وقتی بر علیه نماتودهای مخاط خوار بـه کـار برده شوند ظاهراً اثر کمتری دارند. بنابر این یک واکسن موفق بر علیه این گونه انگلها باید پاسخ ایمنی هـمورال و سلولی کانونی را ایجاد نماید و به علاوه به نوبهٔ خود بر علیه نماتودهای خونخوار مانند هـمونکوس نیز مؤثر بـاشد. بـا تـوجه بـه کـوششهایی کـه در فـرونشاندن پاسخهای آلرژیک در انسان انجام شده به نظر می‌رسد واکنش حساسیت شدید یک هدف مناسب برای تولید واکسنهای حاوی پادگنهای نمایان باشد. یک واکسن که بـاعث دفـع لاروهـا در اولیـن زمـان مـمکن مـی‌گردد، مناسبترین نوع در جلوگیری از ایجاد ضایعات بیماریزا به وسیلهٔ انگل می‌باشد. بنابر این یک واکسن باید باعث تولید ماست سلهای کانونی، پادتنهای سلول گرا، رشد اعصاب معدی - روده‌ای شود و توانمندی انتقال آنها را فعال کند. بـه عـلاوه افـزایش سـلولهای T و سـلولهای دندریتیکی عرضه کنندهٔ پادگن در لایه همبند مـخاطی از عوامل مناسب یک واکسن می‌باشد زیرا باعث ترشح یا نفوذ پادتن اخـتصاصی بـر عـلیه کـرم (کـه بـه طـور موضعی یا سیستمیک سـاخته شـده است) بـه داخـل مخاط می‌گردند (۲ و ۴ و ۵).

تخلیص و تولید واکسن

تا کنون پادگنهای مخفی فقط بر علیه انگلهای خونخوار (مانند هموئکوس) ایمنی ایجاد می‌کنند.

مراحل تلقیح این گونه پادگن‌ها جهت تولید سرمهای حاوی غلظت زیاد پادتن به خوبی ثابت شده است. تزریق زیر پوستی یا داخل عضلانی پادگن همراه با یاور (ادجوانت)[9] فروند و یا دیگر ترکیبات مشابه سرمهایی با تیتر عالی را تولید می‌کنند. بنابر این تخلیص پادتن‌های مخفی در دست اقدام است. با تکرار واکسیناسیون با این نوع واکسنها ایمنی را باید ثابت نگه داشت. این نوع واکسن پاسخهای ایمنی معدی - روده‌ای مناسبی در گوسفند ایجاد نمی‌کند و به علاوه می‌تواند خوکچه و گوسفند را نسبت به آلودگی تریکوسترونژیلوس حساس نگه دارد، در نتیجه باید به کمک روشهای دیگری که باعث ایجاد پاسخ ایمنی روده‌ای مناسب شود این کمبود را جبران کرد و آن استفاده از پادگن‌های نمایان (طبیعی) در واکسنهاست (۲ و ۵).

در یک مطالعه جدید با استفاده از آلبومین تخم‌مرغ به عنوان مدل پادگن پروتئینی ثابت شده است که پاسخهای ایمنی روده‌ای بستگی به راه تخلیص پادگن و مصرف نوع ادجوانت آن دارد. در بررسیها اکثراً افزایشهای ایمنی سلولی، تولید پادتن، ماست سلها و فیبرهای عصبی CD_{56}^{+} به وسیلهٔ تخلیص پادگنهای جدا شده از رودهٔ انگل در ادجوانتهای غیر روغنی انجام گرفته است (۲).

این گونه فعالیتها باید با پادگنهای نوترکیب نماتودی تکرار شود تا بهترین تخلیص و فرمولاسیون در تهیهٔ ماده‌ای که بیشترین قدرت ایمنی‌زائی را دارد فراهم گردد. مطالعات جدید شامل استفاده از حاملهای روده‌ای (مانند سالمونلاها، ویروسهای روده‌ای)، سم وبا (بخصوص زیر مجموعه B آن) و میکروسفرها[10] می‌باشد به طوری که فرمولاسیون اندازه و ساختمان آنها برای ماست سلهای موجود در پلاکهای Peyer روده که قابل بلع باشد در حال انجام گرفتن است (۲).

فاکتورهای مؤثر بر پاسخ ایمنی به علت واکسیناسیون در حیوانات هدف

پس از تولید و تخلیص پادگن ایمنی‌زای مناسب و اطلاع از فرمولاسیون و اجزاء آن هنوز فاکتورهایی وجود دارند که ایجاد ایمنی را در گروهی از میزبانان هدف محدود می‌سازند. بهترین زمان برای استفاده از واکسنها در نشخوارکنندگان قبل از شیرگیری است. در این زمان دام جوان به علت وزن کم و رشد سریع در معرض استرس غذایی است و اگر در این زمان آلودگی انگلی وجود داشته باشد به مواد غذایی بیشتری احتیاج است. به علاوه استرس حاصل از شیرگیری حیوان جوان همراه با افزایش کورتیکوستروئید می‌باشد که این امر با تولید و یا تظاهر ایمنی تداخل می‌نماید. همچنین وضع ایمنی مادرزادی در ایجاد ایمنی حیوان جوان مؤثر است (برای مثال پادتن آغوز). همچنین التهاب قبلی و یا همراهی التهاب لوله گوارش در زمان واکسیناسیون در ایجاد پاسخ ایمنی معدی - روده‌ای مؤثر است. در حالی که اکثر این عوامل مؤثر در حال بررسی می‌باشند، شواهدی در دست است که اهمیت جیرهٔ غذایی را به عنوان یک عامل مهم بیان می‌نمایند. تزریق مکملهای پروتئینی به داخل شیردان هنگام ایمن‌سازی بره‌ها بر علیه هموئکوس باعث افزایش سطح ایمنی اکتسابی می‌شود و بره‌های تغذیه شده با مکملهای پروتئینی نسبت به آلودگی تریکوسترو - نژیلوس سریع‌تر ایمن شدند (۱ و ۲).

نتیجهٔ آزمایشهای اولیه و جاری واکسنها

سه گروه از پژوهشگران بین‌المللی (که محققان استرالیایی را نیز شامل می‌شوند) در حال انجام آزمایشهایی در مورد نخستین نمونه واکسنهای کرمی هستند. به همین دلیل هنوز اطلاعات کامل آخرین تحقیقات در نوشته‌های علمی ثبت و درج نشده است، اما پیشرفت قابل توجهی در کنترل هموئکوس، تریکوسترونژیلوس و استرتاژیا در ده سال اخیر اتفاق افتاده است. رضایت‌بخش‌ترین کنترل در مورد هموئکوس با استفاده از پادگنهای پنهان H11 در گوسفندان نژاد دورست[11] و کلان[12] (ایمنی بیش از ۹۰٪) و استفاده از تروپومیوزین در گوسفندان نژاد مرینوس (ایمنی تقریباً ۵۰٪) گزارش شده است. روش واکسیناسیون به صورت زیرپوستی بوده و تیتر پادتن با ایمنی تناسب داشته است و شامل ایمنی غیر فعال بر علیه آلودگی نیز می‌باشد. اگر چه در بره‌های آلوده شده به طور طبیعی ایمنی اکتسابی مؤثر ۴-۶ ماه دوام دارد اما آنها این قدرت را دارند تا در سن یک ماهگی تیتر پادتن زیادی ایجاد نمایند. برای مثال واکسیناسیون با پادتن H11، بره‌های ۸ هفته را ایمن ساخت. اگر چه نتایج به دست آمده به طور وضوح نشان می‌دهد که بلع پادتن باعث تأثیر بر بقای کرمها می‌شود ظاهراً مکانیسم دقیق عمل ناشناخته است، در حالی که چندین عصاره لارو نشان داده‌اند که بر علیه هموئکوس ایجاد ایمنی می‌کنند و در این مورد یک نوع پروتئاز ۳۵ کیلو دالتن همیشه مؤثر بوده است و همچنین واکسیناسیون با پادگنهای پنهان بر علیه انگلهای خونخوار ایجاد ایمنی می‌کنند اما انگلهای مخاط خوار مانند تریکوسترونژیلوس، نماتودیروس، استرتاژیا حساسیتی به این گونه ایمنی ندارند که احتمالاً علت این است که پادگن اختصاصی آنها کامل نیست (۱،۲ و ۵).

در بررسیهای انجام گرفته به کمک چندین پادگن نوترکیب نمایان (مانند پروتئینهای ترشحی - دفعی با وزن ۱۱، ۱۷، ۳۰، ۷۰ کیلو دالتن) گوسفندان مرینوس را بر علیه تریکوسترونژیلوس بین ۳۰-۶۰ درصد و یک پروتئین ۳۱ کیلو دالتن از لارو مرحله سوم استرتاژیا در همان نژاد ایمنی حدود ۵۰٪ و پروتئینهای ترشحی - دفعی لارو *Oesophagostomum radiatum* در گاو حدود ۹۹٪ ایمنی ایجاد کرده‌اند (۱ و ۲ و ۵).

در این موقعیت واکسنهای پپتیدی برای انگلهای نماتودی مورد توجه نمی‌باشند زیرا احتمال کنترل از طریق ژنتیکی ممکن است نتیجه نداشته باشد. با وجودی که این آزمایشات در گله‌های کوچک در آغل موفقیت‌آمیز بوده است اما تا کنون اطلاعات دقیقی از گله‌های صحرایی که محققان را در شناخت کامل مقدار ایمنی برای کاهش آلودگی در مرتع یاری نماید (مانند کاهش مرگ و میر، کاهش تولید، شیمی درمانی و آلودگی مرتع با کرمها) وجود ندارد. چون واکسنها بر علیه نماتودها هیچ وقت ۱۰۰٪ مؤثر نیست (ایمنی استریل و کامل) در نتیجه آلودگی مرتع به مقدار اندک می‌تواند برای نگه داشتن ایمنی و ثابت نگه داشتن آن به طور دائم در گله مفید باشد (۲). داده‌پردازی اطلاعات کامپیوتری پیش‌بینی‌های ارزشمندی نسبت به اثر واکسنها در گله (بخصوص تریکوسترونژیلوس) داده است اما اطلاعات صحرایی کامل برای معتبر کردن مدلها و اظهار نظرهای فنی مورد نیاز است.

بدون شک نظرات جاری برای واکسنهای نماتود معدی - روده‌ای در آزمایشات صحرایی تقریباً در ۳-۵ سال آینده ارزیابی خواهند شد، و محصول نهایی حاوی ۳-۵ پادگن انگلی مؤثر بر علیه چندین گونه کرم ساخته خواهد شد و ضروریست که تهیه واکسن، ارزان و ساده باشد تا بتوان تکنولوژی آن را تغییر داده و کامل نمود (۱ و ۲).

پاورقی

1. Tropomyosin of muscle
2. Donor sheep
3. Recombinant DNA
4. Tubulin
5. Rapid rejection
6. Lamina propria
7. Neuron - specific enolase
8. Interleukin - 3 (IL_3)
9. Adjuvant
11. Dorset
12. Clun

منابع مورد استفاده

1. Emery, D.L. and Wagland, B.M. 1991. Vaccines against gastrointestinal nematode parasites of ruminants. Parasitol. Today 7: 347-349.
2. Emery, D.L. Mcclure, S.J. and Wagland, B.M. 1993. Production of vaccines against gastrointestinal nematodes of livestock. Immunol. and Cell Biolo. 71: 463-472.
3. ÓDonnell, I.J., Dineen, J.K., Wangland, B.M., Letho, S., Depheide, T.A.A., Grant, W.N. and Ward, C.W. 1989. Characterization of the major immunogen with excretory secretory products of exsheathed 3rd stage larvae of *Trichostrongylus colubriformis*. Int. J. Parasitol. 19: 793-802
4. ÓDonnell, I.J. Dineen, J.K., Wagland, B.M., Letho, S., Werkmeister J.A. and Ward, C.W. 1989. A novel host- protective antigen from *Trichostrongylus colubriformis*. Int. J. Parasitol. 45: 101-108.
5. Travenor, A.S., Smith, T.S., Langford, e.f., Munn, E.A. and Graham, M. 1992 Vaccination of young Dorset Lambs against Heamonchosis. Parasite Immunol. 14: 645-655.