

بررسی وضعیت پاسخ ایمنی گوساله‌های آغوز نخورده کمتر از شش ماه سن پس از تزریق واکسن طاعون گاوی و مطالعه در مورد پیدایش شکیبائی ایمنی

● بهروز قابوی ● محمد حسامی ● روحانی کارگر مؤخر ● حمیدرضا ورشوی ● رویا صدری ● سوسن حقیقی، اعضای هیات علمی مؤسسه تحقیقاتی رازی
تاریخ دریافت: شهریور ماه ۱۳۷۸

due to the presence of antibody in colostrum but did not affect the appearance of antibody by vaccine. All eight calves were inoculated with one vaccinal dose of rinderpest vaccine six month later and antibody appeared immediately and it refused the establishment of immune tolerance among calves.

مقدمه

پس از گذشت متجاوز از ۳۰ سال از تزریق واکسن زنده و کشت سلولی علیه بیماری طاعون گاوی در کشور و با توجه به اینکه طی چند سال گذشته موارد کلینیکی این بیماری در ایران گزارش نشده است، هنوز نمی‌توان به طور دقیق ادعای نمود که بیماری در ایران ریشه کن شده است چرا که عفونت مجدد ممکن است بدون بروز علائم، مانند بیماریهای ویروسی دیگر اتفاق بیافتد.

از نظر کنترل بیماری طاعون گاوی در مناطقی که بیماری به صورت بومی وجود دارد عدم مشاهده علائم کلینیکی در دامهای واکسینه که در مجاورت گاوها آمده قرار گرفته‌اند نمی‌تواند دلیل عدم ترازید و ویروس حاد در بدن آنها باشد به علاوه این خطر وجود دارد که این گونه دامها در نقل و انتقال ویروس به دامهای غیر واکسینه نقش داشته باشند. بنابراین اگر گله واکسینه شده‌ای از منطقه‌ای که آمده می‌باشد عبور داده شود و به منطقه دیگری که دامهای غیر واکسینه وجود دارند برده شود، احتمال انتقال ویروس در حین عبور از منطقه آمده به منطقه عاری از بیماری وجود دارد (۳). از نظر عدم دوام پادتن حاصله از تزریق واکسن طاعون گاوی و همکارانش در یک بررسی نشان داده‌اند که در مورد گوساله‌های واکسینه شده با سویه زنده دو سال پس از واکسیناسیون ۳۰ درصد دامها پادتن مشبت دست می‌دهند و ۷۰ درصد بقیه که از نظر پادتن مشبت می‌باشند در صورتی که در محل آمده قرار گیرند آمده‌گی مجدد در آنها اتفاق می‌افتد بدون اینکه علامت بیماری را در خود نشان دهند و این گونه دامها ویروس را از ترشحات بینی و دهان خود دفع می‌کنند (۴).

در مورد مناسب‌ترین سن دام از نظر تزریق واکسن

آزمایش پس از شش ماه هیچ نوع شکیبائی ایمنی را نشان نداده است.

✓ Pejouhesh & Sazandegi, No 45 PP: 111-113

An investigation on the immune response and establishment of immune tolerance among colostrum deprived calves following inoculation by live rinderpest vaccine

By: Ghaboosi, B.; Hossami, M.; Karegar, M.R.; Varshoeii, H.R.; Sadri, R.; Haghghi, S.; Scientific members of Razi institute.

In order to find the immune response of colostrum deprived calves following inoculation or rinderpest vaccine four new born calves were selected and inoculated with one vaccinal dose of rinderpest vaccine, the time of inoculation were 1-30-60-90 days post parturition, immediately after inoculation bleeding were done and 30 days post inoculation as well. The sera of these calves were used in neutralization index test with the final concentration at $\frac{1}{10}$ dilution, the index of neutralization were calculated as the difference of control virus titre with test sera. The same procedure were carried out with another four colostrum received calves for the comparison. The result of the test revealed that there is no immune response in the calves one day after birth and thirty days after inoculation of rinderpest vaccine, the same result was also repeated. The neutralization index of second calf was also zero but the titre of the successive calves were higher but still not enough. The colostrum received all had a significant titre

چکیده
به منظور بررسی پاسخ ایمنی گوساله‌های آغوز نخورده کمتر از شش ماه سن پس از تزریق واکسن طاعون گاوی تعداد ۴ رأس گوساله نوزاد آغوز نخورده انتخاب و به هر یک به ترتیب زیر یک دز واکسن طاعون گاوی تزریق گردید. زمان تزریق واکسن در ۴ رأس گوساله به ترتیب روز اول، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از تولد بوده است، از این گوساله‌ها در یک روزگی خونگیری به عمل آمده و ۳۰ روز پس از تزریق واکسن خون‌گیری مجدد انجام گردید. از سوم خون این گوساله‌ها هر یک به طور جداگانه پس از غیرفعال شدن در حرارت ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه رقت $\frac{1}{10}$ تهیه گردید و سپس به میزان مساوی با 10^5 TCID_{50/ml} ویروس مخلوط و جهت خشندی در دمای ۳۷ درجه به مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس مخلوط سرم و ویروس بر روی سلول (Razi) bovine kidney برده شد و به روش آلفا ضربت خشندی کنندگی آنها مورد بررسی قرار گرفت. همین آزمایش روى ۴ رأس گوساله آغوز نخورده تحت همان شرایط نیز به ترتیب پاسخ ایمنی در گوساله‌ای که در روز اول تولد واکسن دریافت داشته است پس از ۳۰ روز پادتنی در برابر تزریق واکسن یافت نمی‌شود در گوساله دوم که روز پس از تولد واکسن دریافت نموده ضربت خشندی کنندگی برابر $1/2$ دارا می‌باشد، این میزان پادتن بعد از ۳۰ روز به رقم ۲ می‌رسد و در گوساله سوم که ۶۰ روز بعد از تولد واکسن دریافت نموده ضربت خشندی کنندگی برابر $1/2$ دارا می‌باشد، این میزان پادتن بعد از ۹۰ روز به رقم ۲ می‌رسد و در گوساله چهارم که روز بعد از تولد پادتن افزایش یافته و برابر با $2/5$ بوده است و این گوساله ۳۰ روز پس از تزریق واکسن پادتنی برابر با $3/5$ نشان می‌دهد. گوساله‌های آغوز خورده همگی به علت پادتن موجود در آغوز عیار سرمی قابل توجهی داشته‌اند که این پادتن در برابر ویروس موجود در واکسن خشنی نگردیده است، تکرار این

این گوساله واکسن دریافت داشته و در مقابل طاعون گاوی ایمن است، سرم تهیه شده در روز اول تولد فاقد پادتن می‌باشد که این نتیجه نشان دهنده عدم عبور پادتن از جفت و انتقال آن به جنین است. گوساله مذکور که در بدو تولد واکسن طاعون دریافت داشته حتی ۳۰ روز پس از تزریق واکسن قادر به پاسخ ایمنی نبوده است.

گوساله فوق در ۶ ماهگی که مورد آزمایش مجدد سرمی قرار گرفته عیار صفر را نشان داده است و در این زمان برای بار دوم واکسن طاعون تزریق شده و ۳۰ روز بعد از آزمایش سروولوژی ضریب خنثی کنندگی پادتن برابر با ۴ رانشان می‌دهد.

گوساله شماره ۱۰۴۱ که آغوز نخورده و در روز سی ام پس از تولد واکسن اول را دریافت کرده ضریب خنثی کنندگی سرمی در زمان واکسیناسیون ۰/۲ که این میزان پادتن ناشی از تغذیه با شیر معمولی است و یک ماه بعد از دریافت واکسن به ۱/۲ افزایش می‌یابد. این گوساله برای بار دوم در ۷ ماهگی واکسن دریافت داشته و ضریب خنثی کنندگی در زمان واکسیناسیون دوم به علت تکامل سیستم ایمنی گوساله ۰/۹ بوده و یک ماه بعد از آن برابر با ۴ گردیده است.

گوساله شماره ۱۰۷۴ که آغوز نخورده و در ۶۰ روزگی یک دز واکسن طاعون دریافت داشته در زمان تزریق اول ضریب خنثی کنندگی برابر با ۱/۲ داشته و یک ماه پس از دریافت واکسن این ضریب به رقم ۲ رسیده است. بالاخره گوساله شماره ۱۰۷۶ که آغوز نخورده و در ۹۰ روزگی یک دز واکسن طاعون گاوی دریافت داشته است ضریب خنثی کنندگی سرم آن گوساله در ۹۰ روزگی برابر با ۰/۵ و یک ماه پس از آن ۳/۵ بوده است. به دلیل مشکلات نگهداری از گوساله‌ها انجام عمل واکسیناسیون مجدد ۶ ماه پس از واکسن اول در مورد گوساله‌های شماره ۱۰۷۴ و ۱۰۷۶ و انجام آزمایش سرمی مجدد از آنها بیسنس نگردید، همان‌طور که ملاحظه می‌شود در جدول شماره ۲ رقمی مشخص نشده است. نتایج به دست آمده از تزریق واکسن به گوساله‌های آغوز نخورده به شرح زیر می‌باشد.

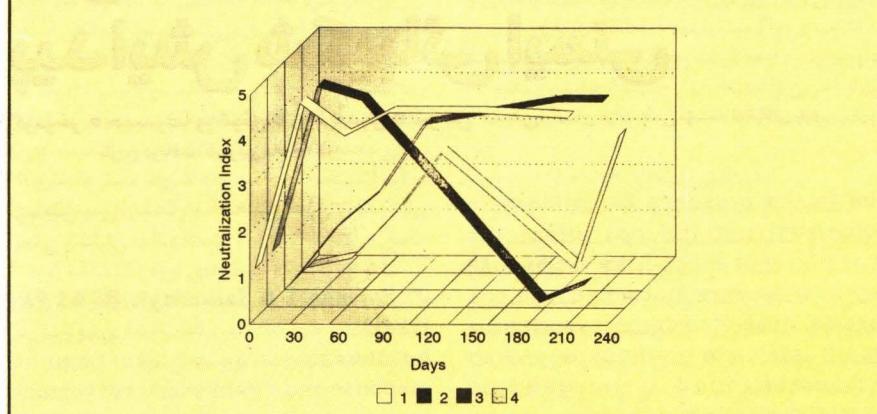
گوساله شماره ۳۵۶ که در بدو تولد آغوز دریافت داشته است در روز بعد پس از خون‌گیری یک دز واکسن طاعون گاوی تزریق شد و یک ماه پس از واکسیناسیون مورد گونه‌گیری مجدد قرار گرفت. ضریب خنثی کنندگی سرم این گوساله در روز اول ۱/۱ و یک ماه بعد از واکسن ۴/۷ بوده است.

گوساله شماره ۱۰۳۸ که آغوز خورده در یک ماهگی خون‌گیری و یک دز واکسن طاعون گاوی به آن تزریق جدول شماره ۱- اطلاعات مربوط به گوساله اعم از سن، شماره، تاریخ تولد، تزریق و خون‌گیری

مجدد به عمل آمد و سرم خون جدا و پس از غیرفعال شدن در حرارت ۵۶ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه در رقت $\frac{1}{10}$ در برابر ویروس تخفیف حدت یافته طاعون گاوی در رقت‌های 10^{-1} الی 10^{-5} TCID $50/ml$ قرار گرفته و پس از ۶۰ دقیقه نگهداری در بن ماری به میزان ۰/۲ سانتی مترمکعب از رقت‌های ویروس و سرم به ۵ لوله حاوی سلول RBK اضافه شده و در گرمخانه قرار گرفت و به مدت ۱۰ روز از نظر ظهور ضایعات سلولی مورد بررسی قرار گرفت و هم زمان ویروس با سرم فاقد بود.

طاعون گاوی و همکارانش عقیده دارند که گوساله‌های جوان پس از تولد از مادر ایمن شده بر ضد طاعون گاوی پادتن لازم را از طریق خوردن آغوز کسب می‌نمایند (۵). ظاهراً واکسیناسیون گوساله‌ها با واکسن زنده طاعون گاوی تحت تأثیر این پادتن می‌باشد خنثی گردد ولی اگر مادر فاقد پادتن باشد گوساله متولد شده از چنین مادری کاملاً حساس باقی می‌ماند. سوال این است که در این مورد برنامه واکسیناسیون چگونه خواهد بود.

نمودار شماره ۱- تغییرات میزان پادتن در ۸ رأس گوساله مشاهده می‌گردد.



پادتن به عنوان شاهد منفی قرار داده شد. اختلاف عیار ویروس که بروش Reed & muench محاسبه گردید همراه با سرم فاقد پادتن به عنوان شاهد ضریب خنثی کنندگی Neutralization index حساب گردید. بطوریکه هر اندازه این عدد کوچکتر باشد ممکن است پادتن بوده و اعداد بزرگتر معرف میزان بیشتری از پادتن است. تمام اطلاعات لازم از نظر سن شماره، تاریخ تولد، تزریق و خون‌گیری در جدول شماره ۱ ذکر گردیده است.

به منظور بررسی پیدایش شکیباتی ایمنی هر ۸ رأس گوساله ۶ ماه پس از دریافت واکسن اول یک دز ضریب خنثی کنندگی وضعیت پاسخ ایمنی آنها مجدداً بررسی گردید.

تاریخ نتایج

همانطور که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است گوساله شماره ۱۰۲۵ که آغوز نخورده با وجود اینکه مادر

نکته مهم دیگر اینکه اگر چنانچه حالت شکیباتی ایمنی در گوساله‌های نوزاد مشابه حالت تحمل ایمنی در کودکان زیر ۶ ماه سن پس از تزریق واکسن سرخ (۱) ایجاد شود و در صورتی که چنین گوساله‌های در معرض ویروس حاد قرار گیرند چه واکنشی را نشان خواهند داد که این سوالات انگیزه انتخاب این موضوع به عنوان یک طرح تحقیقاتی گردید تا نکات ذکر شده مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روشها

به منظور اجرای این طرح ابتدا ۲ رأس گوساله نوزاد یک روزه آغوز نخورده از گاوداریهای اطراف تهران تهیه و به مؤسسه رازی منتقل شده و به سیله شیر خشک صنعتی تغذیه گردیدند که متأسفانه هر دو رأس گوساله‌های مذکور پس از یک هفته به علت ابتلاء به گاسترو-آنتریت شدید و علی‌رغم درمان آنتی‌بیوتیکی تلف شدند. نظر به اینکه تهیه شیر خشک مورد مصرف نوزادان با توجه به گرانی و محدود بودن بودجه طرح و کمیابی آن عملی نگردید. لذا تصمیم گرفته شد از شیر عمومی گاو برای این منظور استفاده شود.

مسئله با همکاران مؤسسه تحقیقات علوم دامی کرج در میان گذاشته شد و موافقت گردید جمعاً ۸ رأس گوساله‌ها نوزاد در اختیار این طرح قرار گردید ۴ رأس از این گوساله‌ها به روش دستی و با شیرگاه‌های شیروار به مدت یک ماه تغذیه گردیدند و ۴ رأس دیگر به طور طبیعی نزد مادرانشان مانده و آغوز و شیر دریافت نمودند. گوساله‌ها در چهار گروه دو تائی (یک رأس آغوز نخورده و ۶۰ پس از تولد ابتداء نمونه خون تهیه و سپس یک دز واکسن طاعون گاوی تزریق گردید). از هر ۴ گروه ۳۰ روز پس از تزریق واکسن خون‌گیری

گوساله‌های آغوز نخورده						
تاریخ خون‌گیری	تاریخ تولد	شماره	سن	تاریخ خون‌گیری	تاریخ تولد گوساله	شماره
۷۵/۱/۱۲۳	۷۵/۱۰/۲۳	۱۰۲۵	۱	۷۶/۲/۲۰	۷۶/۱/۳۰	۳۵۶
۷۶/۲/۱۲۳	تولد	۱۰۴۱	۳۰	۷۶/۲/۲۲	تولد	۱۰۳۸
۷۶/۲/۱۲۳	تزریق	۷۶/۲/۲۲		۷۶/۲/۲۲	تزریق	
۷۶/۲/۱۲۱	تولد	۱۰۷۴	۶۰	۷۶/۴/۲۲	تولد	۱۰۳۹
۷۶/۲/۱۲۱	تزریق	۷۶/۷/۲۱		۷۶/۴/۲۲	تزریق	
۷۶/۹/۱۲۵	تولد	۱۰۷۶	۹۰	۷۶/۵/۲۲	تولد	۱۰۴۰
۷۶/۹/۱۲۵	تزریق	۷۶/۸/۲۵		۷۶/۵/۲۲	تزریق	
۷۶/۵/۱۲۳	۷۶/۴/۲۳	۱۰۲۵	۱۸۰	۷۶/۸/۲۰	۷۶/۷/۳۰	۳۵۶
۷۶/۹/۱۲۴	۷۶/۸/۲۴	۱۰۴۱	۲۱۰	۷۶/۹/۲۱	۷۶/۸/۲۱	۱۰۳۸
۷۷/۲/۲۱	۷۷/۱/۱۲۱	۱۰۷۴	۲۴۰	۷۶/۱۰/۲۲	۷۶/۹/۲۲	۱۰۳۹
۷۷/۲/۲۵	۷۷/۲/۲۵	۱۰۷۶	۲۷۰	۷۶/۱۱/۲۲	۷۶/۱۲/۲۲	۱۰۴۰

این تجربه حاصل نگردید. ویروس طاعون گاوی و ویروس سرخک هر دو در جنس موربیلی ویروس قرار دارند تشابهات زیادی دارند و آنطور که به وسیله همکاران در مؤسسه رازی بررسی شده است (۱) در صورت تزریق واکسن سرخک به اطفال زیر ۶ ماه و فاقد پادتن ضد سرخک آینمنی لازم نسبت به پادگن زنده ویروس واکسن سرخک حاصل نخواهد شد و مکرراً مشاهده شده است که در صورتیکه به این گونه اطفال واکسن تزریق گردد پادتن در بدن آنها تولید نمی‌گردد و جالبتر اینکه اگر واکسیناسیون را برای بار دوم و سوم نیز در ماههای بعد و باحتی پس از یک سالگی تکرار نمایند بار هم قادر به تشخیص پادتن نخواهد بود. در حقیقت یک نوع تحمل آینمنی در طفل مشاهده می‌گردد. در بررسی انجام شده فوق روی طاعون گاوی این نتیجه حاصل نشد و به طوریکه ملاحظه می‌گردد. در ۶ ماهگی و پس از تزریق دوم واکسن طاعون گاوی در گوساله‌های آغوز خورده و آغوز نخورده میزان پادتن افزایش یافته است و این نشان دهنده این است که حالت شکیباتی آینمنی در گوساله اتفاق نمی‌افتد.

سپاسگزاری

از زحمات بی دینه آقایان دکتر سرحدی و مهندس سراج از مؤسسه علوم دامی که در تهیه نگهداری گوساله‌های آغوزخورده کمک بسیار ارزشمند نمودند و همچنین از همکاران بخش تحقیق و تولید واکسن‌های ویروس دام آقایان رحمن فریدی و حسن سلحوچی که در امر نمونه برداری، خون‌گیری و تزریق واکسن به گوساله‌ها، تهیه سلول و انجام آزمایشات سرولوژی و دیگر امور آزمایشگاهی ما را یاری نمودند تشکر و سپاسگزاری می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- شفیعی، عباس و همکاران، ۱۳۷۲. بررسی آنتی‌بادی ضد طاعون گاوی با استفاده از آنتی‌زن سرخک و مقایسه آن با آزمایش سرونو-تالزالیزیون، پژوهش و سازندگی شماره ۲۱- ص ۷۰-۷۳.
- Brown R.D., J.Hyg. Camb., 1958. Rinderpest immunity in calves, 1. The acquisition and persistence of maternally derived antibody. Vol. 5b, No.4.
- Plowright, W.J. Hyg. Camb, 1984. The duration of immunity in cattle following inoculation or rinderpest cell culture vaccine 92. pp. 258-296.
- Provost par A., Maurice. Y., et Borre don, 1969. Compartiment clinique de immunologique, lors de contamination bovinpestique, de bovins vaccines depuis plusieurs années contre la peste bovine avec des vaccines de culture cellulaires. Rev. Elev. Med. Vet. Poys trop 22, 4, pp. 453-464.
- Smith V.W.J. comp. Path., 1966. active immunisation of calves with tissue culture rinderpest vaccine Vol. 76.

خورده مسئله کاملاً متفاوت است چراکه این گوساله‌ها با آغوزی که دریافت می‌کنند آینمنی کافی پیدا می‌نمایند و حداقل این میزان آینمنی تا ۳ ماهگی دام را در برابر و

ویروس حاد مقاوم نگه می‌دارد. در این گوساله‌ها اصولاً تزریق واکسن فاقد ارزش پوده و پادتن موجود در سرم خون کاملاً مربوط به آغوزی می‌باشد که دام در روزهای اول دریافت کرده است، پادتن حاصله از خوردن آغوز از ۳ ماهگی به بعد تدریجاً کاهش پیدا نموده به طوری که در ۶ ماهگی به صفر می‌رسد و گوساله‌ها در مقابل بیماری طاعون کاملاً حساس باقی می‌ماند.

نتایج

حاصله از این بررسی در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است چنانچه ملاحظه می‌شود گوساله‌های که در روز اول تولدشان آغوز دریافت کرده‌اند عیاری در حدود ۱/۱ داشته‌اند که این میزان عیار پس از هضم کامل آغوز افزایش یافته و پس از ۳۰ روز به حدکثر ۴/۷ رسیده است، در صورتیکه این گوساله واکسن دریافت نکرده باشد به تدریج از میزان پادتن سرمی آنها کاسته شده به طوریکه پس از ۱۸۰ روز به صفر می‌رسد (منحنی شماره ۲). در حالیکه در گوساله آغوز خورده دارای شرایط مشابه پس از دریافت واکسن نه تنها عیار پادتن کاسته نگردید بلکه به مرور زمان افزایش می‌یابد (منحنی شماره ۱). نتیجه حاصله نشان می‌دهد پادتن موجود در سرم خون گوساله به دست آمده از آغوز سبب خنثی شدن ویروس واکسن نگردیده است زیرا اگر چنین می‌شد می‌بایستی پادتن به سرعت کاهش یابد در حالیکه می‌بینیم میزان پادتن تدریجاً افزایش پیدا نموده است. مسأله در مورد گوساله‌های آغوز خورده متفاوت است زیرا در این گوساله‌ها به علت عدم وجود پادتن حاصله از دریافت آغوز در بد و تولد عیار پادتن صفر بوده است ولی پس از تزریق واکسن طاعون به تدریج میزان عیار پادتن افزایش پیدا نموده و پس از ۱۸۰ روز به میزان کافی رسیده است (منحنی شماره ۲).

بحث

طاعون گاوی بیماری بسیار مهلک و مسری نشخوار کنندگان بخصوص گاو و گاویمیش است. شیوع آن در بین گله‌های حساس، تلفات و ضایعات فوق العاده شدیدی را همراه دارد. با توجه به حضور فعال بیماری در کشورهای همسایه شرقی، شمالی و غربی و خطر انتقال بیماری به داخل کشور این سازی دامها اساس برنامه مبارزه با طاعون گاوی را تشکیل می‌دهد. جمه نیل به این هدف علاوه بر استفاده از واکسن مؤثر، داشتن برنامه دقیق واکسیناسیون از ضروریات است. بی‌بردن به این نکته که در صورت تزریق واکسن به گوساله‌های جوان چه میزان پادتن ایجاد می‌شود و این مقدار پادتن در حدی می‌باشد که بتواند دام را در مقابل هجمون ویروس محافظت نماید و یا اینکه این چنین دامهای در صورت عدم پاسخ آینمنی در سنین پائین تر از ۶ ماهگی در صورت تزریق مجدد واکسن داده شود و اینکه این چه واکنشی را نشان خواهد داد اساساً این مطالعه را تشکیل می‌دهد.

همانطور که نتیجه آزمایش سری اول گوساله‌های جوان آغوز خورده نشان داده در صورت تزریق واکسن طاعون گاوی در گوساله‌های زیر ۳ ماه سن پاسخ آینمنی کافی به وجود نخواهد آمد. به خصوص پاسخ آینمنی در روزهای اول تولد صفر خواهد بود و در ماههای دوم و سوم تدریجاً افزایش پیدا کرده ولی به حد کافی جهت حفظ دام نخواهد رسید. در مورد گوساله‌های آغوز

جدول شماره ۲- نتیجه آزمایش ضرب خنثی کنندگی به صورت عدد

گوساله‌های آغوز خورده		گوساله‌های آغوز خورده	
نام	سن روز	نام	سن روز
صفر	۱۰۲۵	۱	۴/۷
۱/۲	۱۰۴۱	۳۰	۴
۲	۱۰۷۴	۶۰	۴/۵
۲/۵	۱۰۷۶	۹۰	۴/۲
تزریق مجدد واکسن‌های پس از ۶ ماه		تزریق مجدد واکسن‌های پس از ۶ ماه	
۴	۱۰۲۵	۱۸۰	۴/۵
۴	۱۰۴۱	۲۱۰	۴/۴
-	۱۰۷۴	۲۴۰	-
-	۱۰۷۶	۲۷۰	-