

مروری بر استفاده واکسن دز کاهیده بروسلا ملی تنسیس سویه Rev.1 در دام‌های بالغ

• محمد ابراهیمی (نویسنده مسئول)

موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، تضمین کیفیت، مسئول فنی واکسن‌های
موسسه رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

• اسماعیل ذوقی

استاد بازنشسته موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات،
آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: فروردین ۹۵ تاریخ پذیرش: خرداد ۹۵

Email: mebrahimi646@gmail.com



چکیده

بروسلوز یکی از مهم‌ترین زئونوزها بوده که بوسیله گونه‌های مختلف بروسلا به ویژه بروسلا ملی تنسیس ایجاد می‌گردد. آسان‌ترین راه کنترل بیماری واکسیناسیون تمام نشخوارکنندگان کوچک می‌باشد. واکسن بروسلا ملی تنسیس سویه Rev.1 به عنوان بهترین واکسن موجود و مورد استفاده برای پیشگیری بروسلوز است. روش توصیه شده برای کنترل بیماری واکسیناسیون بره‌ها و بزغاله‌ها با یک دز استاندارد و جایگزینی با دام‌های بالغ بود که در بعضی از کشورهای توسعه یافته و اکثر کشورهای در حال توسعه کاملاً موفقیت‌آمیز نبوده است. واکسیناسیون دام‌های بالغ آبستن با دز کامل واکسن Rev.1 به ویژه در ماه‌های دوم و سوم باعث سقط جنین اکثر دام‌های آبستن می‌شود. استفاده وسیع از واکسن دز کاهیده بروسلا ملی تنسیس سویه Rev.1 به عنوان روش مطلوب و تکمیلی برای پیشگیری بروسلوز در نشخوارکنندگان کوچک پیشنهاد شده و نتایج آزمایشگاهی و میدانی بیانگر کاهش قابل توجه سقط جنین در میش‌های آبستن و میزان بیماری در انسان است. هدف از این مطالعه، مروری بر نتایج به دست آمده از مصرف دز کاهیده واکسن Rev.1 در دام‌های بالغ بوده که برای رفع مشکل سقط جنین و کنترل بروسلوز استفاده شده است.

کلمات کلیدی: بروسلا ملی تنسیس، دز کاهیده، سویه Rev.1، دام بالغ

• Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 115 pp: 2-9

A review of the use of Reduced-Dose Vaccine of *B. melitensis* Rev1 strain in adult sheep

By: Ebrahimi, M., (Corresponding Author) Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organisation (AREEO), Tehran, Iran. and Zoghi, E., Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organisation (AREEO), Tehran, Iran.

Email: mebrahimi646@gmail.com

Received: 2016-04-16 Accepted: 2016-06-07

Brucellosis is one of the most widespread zoonoses in the world caused by several species of the genus *Brucella*. The only feasible alternative to control *B. melitensis* infection in small ruminants is whole-flock vaccination under an extensive management. The live *Brucella melitensis* Rev 1 strain is considered as the best vaccine available for prevention of animal brucellosis. The classically recommended exclusive vaccination of young replacement animals has failed to control brucellosis in some developed countries and is frequently inapplicable in the developing countries. The vaccination of pregnant animals with full standard doses of Rev 1 administered subcutaneously is followed by abortion in most vaccinated animals. Reducing the dose of vaccine has been suggested as a method of avoiding this problem and, accordingly, a reduced-dose vaccination strategy has been widely used and reported as a safe and effective method of controlling small ruminant brucellosis. Moreover, we reviewed field and experimental results supporting the reduction of abortion in pregnant animals and fewer reports of human brucellosis as results of this strategy. The aim of this study was to review the results obtained from the use of reduced doses of Rev.1 vaccine in adult animals to overcome the problem of abortion and control the disease.

Key words: *B. melitensis*, Rev.1 vaccine, reduced dose, Adult sheep

مقدمه

اطلاعات مربوط به اپیدمیولوژی بروسلوز در نشخوارکنندگان کوچک طی سال‌های اخیر افزایش یافته اما هنوز بسیاری از جنبه‌های کنترل بیماری نامشخص مانده است. بهترین روش کنترلی بیماری در کشورهای در حال توسعه واکسیناسیون بوده و در بین واکسن‌های کشته و زنده که برای کنترل بروسلوز در سالیان گذشته مورد استفاده قرار گرفته واکسن تخفیف حدت یافته بروسلا ملی تنسیس سویه Rev.1 بوده که هنوز به عنوان موثرترین واکسن علیه بیماری در گوسفند و بز مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۴ و ۱۱ و ۹).

واکسن Rev.1 اولین بار در سال ۱۹۵۷ میلادی توسط البرگ (Elberg) از سویه حد ۶۰۵۶ بیووار ۱ بروسلا ملی تنسیس تهیه گردید و با سه ویژگی از سویه حد قابل تفریق می‌باشد. این سه ویژگی عبارت از ۱- رشد ضعیف و ایجاد پرگنه‌های صاف کوچکتر از سوش حد بر روی محیط آگار ۲- مقاوم به استرپتومایسین ۳- حساس به پنی‌سیلین می‌باشند (۲ و ۱). تاکنون میلیون‌ها دز از این واکسن در کشورهای مختلف با نتایج بسیار متفاوت از یک واکسن بسیار مطلوب تا واکسنی نامطمئن بدون توضیح روشنی از این

همه تفاوت‌ها استفاده شده است (۳ و ۱).

استراتژی تست و کشتار گاو در کشورهای پیشرفته به منظور پیشگیری بروسلوز در گوسفند و بز هم مورد توجه قرار گرفته است (۴ و ۲). اگر چه این شیوه برای کنترل بیماری در نشخوارکنندگان کوچک در بعضی از کشورهای اروپائی موفق نبوده، در بسیاری از کشورهای در حال توسعه نیز برنامه کامل واکسیناسیون قابل اجرا نبوده است. با وجود این تولید واکسن بروسلا ملی تنسیس سویه Rev.1 در سال ۱۹۵۷ میلادی و استفاده از آن پیشرفت مهمی در کنترل بروسلوز در کشورهای در حال توسعه بوده است (۷ و ۶ و ۵). تمام ویژگی‌ها و نتایج مصرف این واکسن در سراسر دنیا بطور کامل مورد مطالعه قرار گرفته است. اگر چه بعد از سال ۱۹۸۱ اصلاحاتی نیز بر روی روش‌های پذیرفته شده مصرف این واکسن انجام شده است (۱۸ و ۹ و ۸). بر اساس اطلاعات موجود، استفاده از واکسن بروسلا ملی تنسیس سویه Rev.1 در کل گله تنها استراتژی اجرائی کنترل بروسلوز در نشخوارکنندگان کوچک در مناطقی است که بیماری شیوع بالائی دارد (۹ و ۸). هدف از این مطالعه مروری، بررسی توانمندی و بی‌ضرری واکسن دکاهیده بروسلا ملی تنسیس سویه Rev.1 در کنترل

بروسلوز گوسفند و بز در ایران می‌باشد.

واکسن بروسلا ملی تنسیس سویه Rev.1

واکسن بروسلا ملی تنسیس سویه Rev.1 یک واکسن زنده تخفیف حدت یافته به شکل لیوفیلیزه می‌باشد که در دو نوع دز کامل برای دام‌های جوان (بره‌ها و بزغاله‌ها) و دز کاهیده برای دام‌های بالغ در موسسه رازی تولید و توزیع می‌گردد. یک دز استاندارد این واکسن دارای یک تا چهار میلیارد جرم و یک دز کاهیده آن حاوی ۵۰۰ هزار تا یک میلیون جرم بروسلا ملی تنسیس سویه Rev.1 می‌باشد. طبق گزارش سازمان جهانی بهداشت حیوانات (OIE) واکسن بروسلا ملی تنسیس سویه Rev.1 به عنوان مؤثرترین و کارآمدترین واکسن جهت ایمن‌سازی فعال و ایجاد محافظت علیه بروسلوز در گوسفند و بز شناخته شده است (۳۹ و ۳۳ و ۱۹ و ۱۷).

تجارب استفاده از واکسن Rev.1

برنامه اولیه کنترل بروسلوز در نشخوارکنندگان کوچک در بسیاری از کشورها بر اساس واکسیناسیون بره‌ها و بزغاله‌های ماده (سنین بین سه تا پنج ماه) با یک دز کامل ($10^9 \times 4-1$) بروسلا ملی تنسیس سویه Rev.1 و جایگزینی با دام‌های مسن بوده است (۳۸ و ۹ و ۸). برای مثال اولین بار در سال ۱۹۷۶ در کشور اسپانیا برنامه واکسیناسیون دام‌های جوان و جایگزینی با دام‌های مسن شروع شد. فرض بر این بود که با واکسیناسیون تمام دام‌های جوان و جایگزینی با دام‌های مسن در یک دوره پنج تا شش ساله تمام دام‌ها ایمن خواهند بود. در صورتی که پس از شش سال اجرای این برنامه هنوز بیماری در بین پنج تا شش درصد از جمعیت گوسفندی شیوع داشت و ۶۴ درصد از گوسفندان بالغ بعنوان ناقل بودند و حدود ۸۰۰۰ نفر بیمار در کشور گزارش گردید که بیانگر ناکارآمدی این برنامه واکسیناسیون در کنترل بیماری بود (۱۵ و ۹). دلیل احتمالی عدم موفقیت را کیفیت ضعیف واکسن تولیدی و پوشش پایین واکسیناسیون دام‌ها اعلام شد. اگر چه کیفیت ایمنی‌زایی واکسن Rev.1 به عنوان یک عامل مهم مطرح بود (۲۰ و ۹ و ۵). اما بر اساس آمار رسمی سازمان دامپزشکی کشور از مقدار واکسن Rev.1 خریداری شده و تعداد دام‌ها، عدم پوشش کامل واکسیناسیون دام‌ها به عنوان عامل اصلی مورد پذیرش قرار گرفت. بطوری که حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد از نشخوارکنندگان کوچک مورد نظر در طی یک دوره شش ساله واکسن دریافت نکرده بودند (۲۶ و ۱۷ و ۹). استفاده انحصاری و اجباری واکسن توسط دامپزشکان و ضعف مدیریت در جایگزینی دام‌های واکسینه با غیر واکسینه توسط دامداران (دامداران بر اساس قیمت دام اقدام به جایگزینی می‌نمودند نه بر اساس واکسینه و یا غیر واکسینه بودن دام‌ها) باعث شده بود که تعداد کمتری از دام‌های واکسینه جایگزین شوند. بنابراین یک استراتژی موثرتر برای کنترل بیماری مورد نیاز بود (۲۷ و ۹ و ۷). با اینکه نتایج به دست آمده از استراتژی واکسیناسیون بره‌ها و بزغاله‌ها و جایگزینی با دام‌های مسن برای کنترل بیماری در نشخوارکنندگان کوچک در بعضی از کشورها بسیار مثبت بوده است (۲۷ و ۲۵ و ۱۳). اما در کشورهای دیگر نتایج متفاوتی به دست آورده‌اند (۳۱ و ۱۱ و ۸). بر اساس سیاست سازمان دامپزشکی کشور در سال ۱۳۴۲ واکسیناسیون بره‌ها و بزغاله‌ها با یک دز استاندارد واکسن Rev.1 در سنین سه تا پنج ماهگی شروع شد. به دلیل این که در استراتژی

واکسیناسیون دام‌های جوان با یک دز کامل و جایگزینی با دام‌های مسن پاسخ مناسبی دریافت نشده بود، در سال ۱۳۸۲ علاوه بر واکسیناسیون دام‌های جوان توصیه شد که دام‌های بالغ نیز با واکسن Rev.1 دز کاهیده واکسینه شوند. بررسی‌های ما نشان داد که ضریب واکسیناسیون در کشور حدود ۲۰ درصد می‌باشد و میزان ابتلای هموطنان ما به بیماری بروسلوز در سال ۹۴ بیش از ۲۰ هزار نفر گزارش شده است. همچنین موارد ابتلا به بروسلوز در مناطق شمالغرب و غرب کشور نسبت به سایر مناطق کشور بیشتر بوده است و یک دز کامل واکسن بروسلا ملی تنسیس سویه Rev.1 در بره‌ها و بزغاله‌ها ایمنی مناسبی برای یک دوره اقتصادی سه تا چهار ساله (ایجاد می‌نماید مشروط بر این که ۹۰ درصد دام‌ها هر ساله واکسینه شوند (۱۹ و ۱۷ و ۵ و ۳)).

شواهد حاصل از مطالعات میدانی محدود و گاه متضاد بود. در سال ۱۹۸۳ بعد از واکسیناسیون ۳۵ راس میش با دز کامل واکسن Rev.1 به صورت زیرجلدی در بین ماه‌های دو تا چهار آبستنی هیچ‌گونه سقط جنینی مشاهده نشد. اما در یک تجربه دیگر با تلقیح واکسن Rev.1 کاهش جرم یافته (۱۰۵ تا ۱۰۶) به صورت زیرجلدی در میش‌های بین دو تا سه ماهگی دوره آبستنی افزایش سقط جنین گزارش شد (۲۱ و ۱۹ و ۱۳). مطالعات میدانی ما نشان داد که با تلقیح مقادیر متفاوت 10^5 و 10^6 و 7×10^6 جرم از واکسن Rev.1 در میش‌های آبستن در بین ماه دو تا چهار آبستنی بصورت زیرجلدی فقط میش‌هایی که مقادیر هفت میلیون جرم دریافت کرده بودند، ۲۷ درصد سقط جنین داشتند و هر دو گروه از میش‌هایی که 10^5 و 10^6 جرم دریافت کرده بودند، سقط جنین نداشتند (۳۴ و ۱۸ و ۱۷). متعاقب آزمایش میدانی چندین گله گوسفند با واکسن Rev.1 در اسپانیا، مانند سایر کشورها نتایج متناقضی از میزان سقط جنین در گله‌های تحت آزمایش گزارش گردید (۳۸ و ۹). دو روش متفاوت برای واکسیناسیون دام‌های بالغ استفاده شد ۱- موارد اضطراری، استفاده از نصف دز کامل واکسن Rev.1 (5×10^4) به صورت زیرجلدی در گله‌هایی که سقط جنین شایع بود، توانست بیماری را تحت کنترل درآورد (۲۲ و ۲۱ و ۱۳). و ۲- استفاده از واکسن Rev.1 کاهش جرم یافته (1×10^6) که از طرف وزارت کشاورزی اسپانیا به عنوان استراتژی اصلی توصیه شده بود. چندین میلیون بز و گوسفند تا سال ۱۹۸۳ با این روش واکسیناسیون شدند (۱۱ و ۹). مطالعات میدانی ابراهیمی و همکاران در سال ۱۳۸۲ نیز تلقیح مقدار بین ($10^5 \times 10 - 5$) جرم از واکسن Rev.1 را به عنوان بهترین استراتژی واکسیناسیون دام‌های بالغ به سازمان دامپزشکی پیشنهاد کرد که در حال حاضر مورد استفاده قرار می‌گیرد. البته در مواردی سقط جنین گزارش شده است که بروسلا ملی تنسیس سویه Rev.1 (واکسینال) و سویه وحشی به طور همزمان از ترشحات واژینال و اندام‌های جنین سقط شده جدا گردید و در هیچ یک از گله‌هایی که سقط جنین داشتند سوش واکسینال به تنهایی جدا نگردید. لذا استفاده از واکسن بروسلا ملی تنسیس سویه Rev.1 به میزان توصیه شده ($10^5 \times 10 - 5$) بی‌ضرر می‌باشد (۳۴ و ۱۸ و ۱۷).

عوامل مختلفی بر افزایش و یا کاهش دوره‌های بروسلوز در سال‌های مختلف موثر هستند. پوشش ضعیف واکسیناسیون دام‌های جوان (طبق بررسی ما حدود ۲۰ درصد)، انتشار باکتری از شیر در دام‌های شیرده، دفع باکتری همراه با ترشحات واژینال و اندام‌های جنین سقط شده مرتبط با بروسلا

ویژه در مناطق کستایل (Castile) و آراگون (Aragon) کاملاً موفقیت‌آمیز به نظر رسید اما با نظارت و دقت بیشتر مشخص شد که در طول دوره یکساله متعاقب اجرای این برنامه واکسیناسیون در هر دو منطقه فوق از سوآب واژینال، شیر و اندام‌های چندین جنین که سقط شده بودند باکتری بروسلا ملی‌تنسیس سویه Rev.1 جدا گردید (۱۰ و ۶). شکل سقط جنین اتفاق افتاده در این مناطق دقیقاً مشابه سقط جنین ناشی از روش واکسیناسیون تصف دز کامل بود و بیشترین میزان سقط جنین در روزهای ۴۰ تا ۶۰ پس از واکسیناسیون اتفاق افتاده بود (۱۷ و ۱۳ و ۸). در بعضی از مناطق اسپانیا این روش بلافاصله ممنوع شد اما در مناطق دیگر استفاده از روش دز کاهیده تا کنون ادامه دارد. نتایج به دست آمده از مطالعات میدانی و شواهد آزمایشگاهی نشان داد که تفاوت قابل توجهی از نظر بی‌ضرری بین واکسن‌های تولیدی مراکز مختلف وجود دارد (۴۳ و ۳۸ و ۱۷).

با این وجود استفاده از واکسن دز کاهیده بروسلا ملی‌تنسیس سویه Rev.1 به عنوان روش توصیه شده کمیته تخصصی مشترک FAO/WHO می‌باشد و این روش توسط بعضی از دیگر صاحب‌نظران به عنوان یک روش مناسب واکسیناسیون برای تمام گله و بدون هیچ‌گونه محدودیتی توصیه شده است (۴۰ و ۲۲ و ۱۰). در حقیقت این استراتژی در بسیاری از کشورهای در حال توسعه استفاده می‌گردد و گزارشاتی مبنی بر کنترل نسبی بیماری در نشخوارکنندگان کوچک وجود دارد (۳۷ و ۳۶ و ۲۳). بر اساس مطالعات میدانی انجام شده در ایران، استفاده از واکسن دز کاهیده بروسلا ملی‌تنسیس سویه Rev.1 به مقدار $(10^5 \times 1 - 5)$ جرم در هر دز در دام‌های بالغ و با رعایت احتیاط استفاده آن در دام‌های آبستن به ویژه ماه‌های سه تا چهار آبستنی کاملاً بی‌ضرر می‌باشد (۱۹ و ۱۷). به علاوه بررسی میدانی ما نشان داد که تلقیح مقدار $10^5 \times 5$ یا 10^6 جرم در دز واکسن در هر دو گروه میش‌های تحت آزمایش باعث سقط جنین نمی‌گردد. به دلیل این که استفاده از مقدار 10^6 جرم در هر دز واکسن تیترا ایمنی بالاتر و طولانی‌تری را ایجاد می‌نماید، لذا توصیه شده است که یک دز واکسن بروسلا ملی‌تنسیس سویه Rev.1 برای دام‌های بالغ حاوی 10^6 جرم باشد (۱۹ و ۱۸ و ۱۷ و ۱۰).

مطالعات تجربی

واکسن بروسلا ملی‌تنسیس سویه Rev.1 بعد از تولید و قبل از اجازه مصرف بر روی دام هدف باید از نظر تست‌های کنترلی زیر بر روی حیوان آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گیرد: ۱- ارزیابی باقیمانده عوامل حدت زا و ۲- ارزیابی ایمنی زائی واکسن. در رابطه باقیمانده عوامل حدت‌زا، طبق دستورالعمل استاندارد واکسنی مطلوب است که مدت زمان لازم برای پاک شدن ۵۰ درصد موش‌ها مشابه با مدت زمان (هشت و نیم تا نه هفته) موش‌هایی باشد که واکسن بروسلا ملی‌تنسیس سویه Rev.1 استاندارد را دریافت کرده‌اند و این مدت کمتر از موش‌هایی باشد که سوش حاد دریافت کرده‌اند (۳۲ و ۱۸ و ۱۷).

ارزیابی باقیمانده عوامل حدت‌زا، با تلقیح 0.2 میلی‌لیتر واکسن بروسلا ملی‌تنسیس سویه Rev.1 تولید موسسه رازی حاوی 10^6 و یا 10^7 جرم از سوش حاد ($16m$) به تعداد ۴۲ سر موش به روش زیرجلدی نشان داد که مدت زمان لازم برای پاک شدن ۵۰ درصد موش‌هایی که سویه Rev.1 تولید موسسه رازی را دریافت کرده بودند، ۶۱ روز و مشابه مدت زمان

ملی‌تنسیس، وجود عوامل اتیولوژیک مقاوم در محیط، عدم همکاری دامداران در برنامه واکسیناسیون دام‌های جوان و تحت کنترل نبودن خرید و فروش دام‌ها از عوامل موثر بر افزایش دوره‌ای بروسوز می‌باشند. افزایش ایمنی ناشی از تداوم واکسیناسیون دام‌های بالغ و جوان، تولد نسل جدید که از ایمنی مادری بالاتری برخوردارند، بالا رفتن آگاهی و تمایل بیشتر دامداران به مصرف واکسن Rev.1 در دام‌های جوان و بالغ، اجرای دقیق‌تر برنامه واکسیناسیون و تست و کشتار توسط سازمان دامپزشکی نیز از عواملی هستند که در یک دوره مشخص میزان شیوع بیماری کاهش می‌یابد (۴۴ و ۱۷).

نتایج مطالعات میدانی

روش اضطراری نصف دز کامل

این روش در ابتدا به عنوان یک روش رضایت‌بخش مورد پذیرش قرار گرفت (۱۲ و ۱۰ و ۸)، به ویژه زمانی که گله در اواخر دوره آبستنی باشد و به دلیل شیوع بیماری میزان سقط جنین بالا باشد (۱۲ و ۹). اگر چه زمانی که این روش واکسیناسیون بدون توجه به دوره آبستنی مورد استفاده قرار گرفت متعاقب واکسیناسیون میزان سقط جنین در گله افزایش یافت. سقط جنین به ویژه در دام‌هایی که در بین ماه‌های دوم و سوم آبستنی بودند بسیار شدیدتر بود به طوری که تا حدود ۸۰ درصد نیز رسید (۳۵ و ۱۴ و ۹). یکی از نکات قابل توجه این آزمایش میدانی تفاوت میزان سقط جنین پس از استفاده از شماره بچ‌های مختلف از واکسن Rev.1 بود. واکسن بعضی از این بچ‌ها به وضوح باعث افزایش سقط جنین می‌شدند در حالی که واکسن دیگر جنین نبود. برای نشان دادن این تفاوت سه بچ مختلف از واکسن‌های Rev.1 بر روی حدود ۱۴۰۰ راس میش از سه گله مختلف که در روزهای بین ۴۰ تا ۶۰ دوره آبستنی بودند، به صورت زیرجلدی نصف دز کامل تزریق شده و مورد مقایسه قرار گرفتند. این سه بچ واکسن از نظر تعداد کلنی در هر دز و عدم وجود پرگنه‌های خشن بر اساس دستورالعمل استاندارد مورد قبول بودند (۹ و ۷ و ۵). در شرایط میدانی پس از استفاده از این واکسن‌ها در یکی از گله‌ها به صورت مشخصی میزان سقط جنین بالا بود در حالی که در دو گله دیگر سقط جنین معنی‌داری مشاهده نگردید (۱۹۹۳، ۱۹۹۰، گارسیا، بلاسکو نتایج آزمایشات منتشر نشده).

بر اساس دستورالعمل استاندارد از سوآب واژینال، شیر و اندام‌های جنین باکتری بروسلا ملی‌تنسیس بیووار ۱ سویه Rev.1 جدا گردید (۱۷ و ۱۶ و ۹ و ۵). نهایتاً این روش واکسیناسیون مورد تایید قرار نگرفت. در مطالعات میدانی انجام شده در ایران با استفاده از مقادیر متفاوت $(10^5 و 10^6 و 10^7)$ واکسن بروسلا ملی‌تنسیس سویه Rev.1 مقدار $(10^6 \times 7)$ جرم که بسیار پایین‌تر از نصف دز کامل $(10^8 \times 5)$ است نیز در دام‌های آبستن به ویژه در روزهای بین ۴۰ تا ۶۰ آبستنی با افزایش میزان سقط جنین همراه بود و باکتری بروسلا ملی‌تنسیس سویه Rev.1 از سوآب واژینال، شیر و اندام‌های جنین جدا گردید (۱۸ و ۱۷ و ۱۰ و ۷).

روش واکسیناسیون با دز کاهیده

استفاده از یک میلیون جرم بروسلا ملی‌تنسیس سویه Rev.1 به صورت زیر جلدی:

نتایج اولیه واکسیناسیون بیش از یک میلیون بز و میش در جنوب اسپانیا به

زیرجلدی اگر چه باعث سقط جنین نمی‌شود، اما ایمنی مناسبی هم ایجاد نمی‌کند (۲۱ و ۱۴ و ۹).

استراتژی فعلی واکسیناسیون دام‌های بالغ برای کنترل بروسلاز

نتایج حاصل از آزمایش‌های تجربی و میدانی اخیر نشان می‌دهد که تفاوت بین باقیمانده عوامل حدت‌زا و ایمنی‌زای واکسن‌های مختلف Rev.1 تولید شده در سراسر دنیا، ممکن است به دلیل ناهماهنگی نتایج به دست آمده از آزمایشات میدانی در کشورهای مختلف باشد (۱۰ و ۷). علاوه بر این به دلیل ایمنی‌زایی ضعیف، واکسن کاهش جرم‌یافته Rev.1 نباید بعنوان یک جایگزین با واکسن دز کامل مورد استفاده قرار گیرد (۴۱ و ۷). اگر چه واکسیناسیون به روش قطره چشمی یک روش کم‌خطرتر از روش واکسیناسیون زیرجلدی برای دام‌های بالغ بوده اما بی‌خطری آن در حدی نیست که بدون توجه به وضعیت آبستنی دام استفاده گردد (۱۱ و ۶).

دیگر واکسن‌های زنده جایگزین Rev.1 مانند بروسلا سوئیس سوئیس سوئیس ۲، بروسلا آورتوس RB51 و یا بروسلا آورتوس S19 برای پیشگیری بروسلاز در نشخوارکنندگان کوچک مناسب نیستند (۳۹ و ۲۸ و ۱۰). بنابراین تا زمان پیدا کردن یک جایگزین مناسب برای واکسن بروسلا ملی‌تنسیس سوئیس Rev.1 این واکسن به عنوان تنها و مناسب‌ترین واکسن برای پیشگیری بیماری در نشخوارکنندگان کوچک توصیه می‌گردد. مناسب است که این واکسن فقط برای دام‌های غیرآبستن استفاده گردد اما این شرایط برای گله عملی نیست، لذا برای پیشگیری بیماری در دام‌های بالغ نشخوارکننده کوچک واکسن دز کاهیده Rev.1 توصیه می‌شود که ممکن است با درصد پایینی از سقط جنین همراه باشد. البته اثر استرس و آسیب‌های فیزیکی احتمالی را در زمان واکسیناسیون بر میزان سقط جنین نباید از نظر دور داشت (۲۸ و ۱۷ و ۱۰).

عوامل مهمی که بر روی بی‌ضرری واکسن Rev.1 تاثیر می‌گذارند و می‌بایستی مورد توجه قرار گیرند عبارتند از: ۱- کیفیت واکسن: واکسن بروسلا ملی‌تنسیس سوئیس Rev.1 بایستی بر اساس سیستم یک بذر یک بچ (seed lot system) تولید شده و از نظر پایداری مارکرهای فنوتیپی تحت کنترل باشد و همچنین مدت باقیماندن عوامل حدت‌زا و ایمنی‌زای آن بر روی موش آزمایشگاهی تعیین شده و در محدوده قابل قبولی باشد (۱۷ و ۱۳).

۲- واکسیناسیون دام‌های جوان با یک دز استاندارد ($10^4 \times 4$) در سن ۳ تا ۵ ماهگی به روش زیرجلدی و دام‌های بالغ با دز کاهیده به روش زیرجلدی و یا قطره چشمی صورت گیرد ۳- از واکسیناسیون دام‌های آبستن در حد امکان و یا تلقیح آن‌ها در اواخر دوره آبستنی پرهیز شود تا میزان سقط جنین کاهش یابد (۲۸). ۴- باید توجه داشت که بعد از استفاده واکسن بروسلا ملی‌تنسیس سوئیس Rev.1 به روش قطره چشمی باکتری به مقدار کم از طریق شیر دفع می‌شود (۴۲ و ۳۹ و ۳۸). و ۵- زمان آبستنی دام‌ها تحت شرایط مدیریتی مختلف متفاوت است و برنامه واکسیناسیون دام‌های بالغ باید متناسب با دوره آبستنی دام انتخاب گردد (۳۷ و ۱۴ و ۱۱).

تداوم کنترل گله و پیشگیری از بیماری

به دو روش امکان پذیر است

شکل ایده‌ال: واکسیناسیون تمام دام‌های جوان در سال اول و پس از آن

(هشت و نیم تا نه هفته) موش‌هایی بود که واکسن بروسلا ملی‌تنسیس سوئیس Rev.1 استاندارد را دریافت کرده‌اند. این زمان برای موش‌هایی که سوئیس سوئیس ۱۶m را دریافت کرده بودند، ۹۲ روز بود (۳۰ و ۱۹ و ۱۷ و ۴).

ارزیابی ایمنی‌زایی واکسن، با تلقیح ۰.۲ میلی‌لیتر واکسن بروسلا ملی‌تنسیس سوئیس Rev.1 تولید موسسه رازی حاوی 10^5 جرم به دو روش زیرجلدی و داخل صفاقی به دو گروه موش تحت آزمایش و تزریق ۰.۲ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل به گروه شاهد، و بعد از چهار هفته، با چالش هر سه گروه موش‌ها با 10^5 جرم ازسوش حاد (۱۶m) بروسلا ملی‌تنسیس، و خارج کردن و کشت طحال بعد از دو هفته، کارآیی واکسن طبق پروتکل استاندارد محاسبه شد و نشان داده شد که واکسن مورد مطالعه از کارآیی مطلوبی برخوردار است (۲۵ و ۱۹ و ۱۷ و ۱۳).

نمونه‌هایی از واکسن‌های تجاری تولید شده در سال‌های ۱۹۸۵ - ۱۹۸۴ در پنج مرکز تولید فراورده‌های بیولوژیک در اسپانیا برای دکتر بوسرای (Bossray) (آزمایشگاه رفرانس) ارسال شد و بر روی موش مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج آزمایشات اختلاف قابل توجهی از نظر باقیمانده عوامل حدت‌زا بین نمونه‌های پنج مرکز تولید واکسن نشان داد (۲۵ و ۱۳). علاوه بر آن رابطه مستقیمی بین نتایج آزمایشگاهی بر روی موش و نتایج بدست آمده از آزمایش میدانی بر روی گوسفند وجود داشت. این ارتباط می‌تواند بخشی از تفاوت نتایج بی‌ضرری بدست آمده از آزمایشات میدانی اسپانیا و دیگر کشورها را توضیح دهد. در هر دو نوع واکسن Rev.1 اسپانیایی و پرتغالی که پس از آزمایشات میدانی بر روی گوسفند سقط جنینی مشاهده نگردید (۱۳ و ۱۲ و ۱۰) در آزمایشات بر روی حیوان آزمایشگاهی (موش) عوامل باقیمانده حدت‌زای کمتر و ایمنی‌زایی پایین‌تری مشاهده شد (۲۸ و ۱۶). به طور معکوس تنها در استفاده از یکی از واکسن‌های اسپانیایی که میزان باقیمانده عوامل حدت‌زا و ایمنی‌زای آن بر روی موش در حد استاندارد بود در میش‌های آبستنی که واکسن را به صورت زیرجلدی دریافت کرده بودند در بیشتر از ۶۰ درصد از میش‌ها سقط جنین مشاهده شد (۲۹ و ۲۵).

همچنین در یک مطالعه تجربی دو روش واکسیناسیون زیر مورد مقایسه قرار گرفتند: ۱- واکسیناسیون با دز کامل بروسلا ملی‌تنسیس سوئیس Rev.1 به روش قطره چشمی، ۲- واکسیناسیون با دز کاهیده به روش زیرجلدی. نتایج مطالعه نشان داد که واکسیناسیون با دز کامل به روش قطره چشمی با میزان سقط جنین کمتری همراه بود اما تعدادی از گوسفندان بروسلا ملی‌تنسیس سوئیس Rev.1 را از طریق شیر دفع کردند و همچنین از ترشحات واژینال و اندام‌های جنین سقط شده باکتری بروسلا سوئیس Rev.1 جدا گردید (۴۲ و ۳۳ و ۲۹). علاوه بر این انجام واکسیناسیون به روش قطره چشمی بسیار پرمخاطره است و در موارد زیادی باعث آسیب‌رساندن به چشم دام می‌گردد (۳۵ و ۱۷). دریک تجربه مشابه در فرانسه متعاقب واکسیناسیون به روش قطره چشمی با دز کامل واکسن Rev.1 در بیش از ۷۰ درصد از گوسفندها و بزها سقط جنین مشاهده شد (۴۳ و ۴۲).

از نتایج این تحقیق چنین بر می‌آید که تجویز واکسن Rev.1 به روش قطره چشمی به مقدار کمتر از 10^8 برای میش‌های آبستن می‌تواند روش مطمئنی باشد اما مقدار کمتر از 10^6 جرم در دز حتی پس از تکرار واکسیناسیون ایمنی مناسبی ایجاد نمی‌نماید (۲۴ و ۸). بنابراین واکسیناسیون با واکسن دز کاهیده به روش قطره چشمی مشابه روش

منابع مورد استفاده

- 1- Oghi, I., Ebadi, A., Yarahmadi, M., Khodashenas, M (1387). Evaluation of Rev.1 vaccine in adult ewes, *Veterinary Society Quarterly*. 2 (In Farsi)
- 2- Iraee, M., Zoghi, I., Mozafari, N (1376). Serological response of sheep to *Brucella melitensis* Rev. 1 vaccine in Ilam province. 4th congress of zoonosis. (In Farsi)
- 3- Zoghi, I (1375). Immunization of adult ewes against brucella infection. 3rd congress of zoonosis (In Farsi)
- 4- Al-Khalaf, S. A., Mohamad, B. T., Nicoletti, P (1992). Control of brucellosis in Kuwait by vaccination of cattle, sheep and goats with *Brucella abortus* strain 19 or *Brucella melitensis* strain Rev. 1. *Tropical Animal Health and Production*, 24(1):45-9.
- 5- Alton, G.G (1990). *Brucella melitensis*. In: K. Nielsen, J.R. Duncan (Eds.) *Animal Brucellosis*. CRC Press, :383-409.
- 6- Alton G. G (1970). Vaccination of goats with reduced doses of Rev. 1 *Brucella melitensis* vaccine. *Research in Veterinary Science*, 11(1):54-9.
- 7- Alton, G.G (1968). Further studies on the duration of immunity produced in goats by the Rev.-1 *Brucella melitensis* vaccine. *Journal of Comparative Pathology*, 78:173-178.
- 8- Alton, G. G., Elberg, S (1967). Rev-1 *Brucella melitensis* vaccine: a review of ten years of study. *Veterinary. Bulletin*, 37:793-800.
- 9- Blasco, J.M (2006). Existing and future vaccines against brucellosis in small ruminants. *Small Ruminant Research*, 62(1):33-37.
- 10- Blasco, J. M (1997). A review of the use of *B. melitensis* Rev 1 vaccine in adult sheep and goats. *Preventive Veterinary Medicine*, 31(3/4): 275-283.
- 11- Blasco, J. M., Estrada, A., Mercadal, M (1984). A note on adult sheep vaccination with reduced dose of *Brucella melitensis* Rev 1. *Annales de recherches veterinaires*. 15(4):553-6
- 12- Blasco, J. M., Diaz, R., Moriyon, I., Salvo, M. D (1984). Evaluation of a radial immunodiffusion test for diagnosing brucellosis in sheep and its possible value for differentiating infected from *Brucella melitensis* REV 1 vaccinated sheep. *Developments in biological standardization Journal*, 56:507-11.
- 13- Busseray, N (1991). *Brucella melitensis* Rev. 1 living attenuated vaccine: stability of markers, residual virulence and immunogenicity in mice. *Biologicals*, 19(4):355-63.
- 14- Busseray, N., Plommet, A. M., Plommet. M (1984). Theoretical, practical and statistical basis for a general control method of activity for anti-*Brucella* vaccines. *Developments in biological standardization Journal*, 56:257-70.
- 15- Crowther, R. W., Orphanides, A., Polydorou, K (1977). Vac-

فقط دامهایی که بعداً به گله اضافه می‌شوند. بنابر این احتمال خطر سقط جنین فقط محدود به سال اول می‌شود، اگر چه به دلیل مشکلات کنترلی و تشخیص دامهای جایگزین این روش در کشورهای در حال توسعه غیرعملی می‌باشد (۴۳ و ۳۴).

۲- روش جایگزین: انجام عملیات واکسیناسیون برای تمام گله هر دو سال یکبار برای حداقل هشت تا ده سال.

نتایج و توصیه‌ها

در حالی که یک توافق کلی وجود دارد که واکسن Rev.1 به عنوان بهترین واکسن موجود برای پیشگیری بروسلاز در نشخوارکنندگان کوچک می‌باشد ولی درباره روش استفاده از این واکسن در برنامه واکسیناسیون اختلاف نظر وجود دارد (۱۱ و ۱۰ و ۸). بطور کلی یک روش اجرائی کاملاً بی‌ضرر برای واکسیناسیون تمام گله وجود ندارد و در کشورهای مختلف متناسب با وضعیت موجود یکی از روش‌های واکسیناسیون و یا تلفیقی از دو یا چند روش مورد استفاده قرار می‌گیرد. به دلیل موقعیت جغرافیایی کشور که امکان قاچاق و یا تردد غیر قابل کنترل دام از طریق مرزهای شرقی و غربی کشور وجود دارد و بر اساس مطالعات میدانی ما و طبق نظر کمیته تخصصی سازمان دامپزشکی کشور بهترین برنامه توصیه شده برای کنترل بیماری به کارگیری هر دو روش زیر می‌باشد و هیچ یک به تنهایی موفقیت‌آمیز نخواهد بود.

۱- واکسیناسیون بره‌ها و بزغاله‌ها در سن بین سه تا پنج ماه با یک دز استاندارد به مقدار ($1 \times 10^4 - 4$) جرم از بروسلا ملی‌تنسیس سویه Rev.1 به روش زیر جلدی.

۲- واکسیناسیون دامهای بالغ با یک دز کاهیده واکسن بروسلا ملی‌تنسیس سویه Rev.1 به ($1 \times 10^5 - 10$) جرم در هر دز و رعایت احتیاط بیشتر در دامهای آبستن و در صورت امکان واکسیناسیون در اواخر دوره آبستنی.

اگرچه گزارش شده است که واکسیناسیون به روش قطره چشمی برای گوسفندان پوشش ایمنی مناسبی برای حداقل دو دوره آبستنی بعدی ایجاد می‌نماید (۴۴ و ۳۶). ولی اطلاعات بیشتری در باره مدت ایمنی ایجاد شده پس از مصرف واکسن Rev.1 به روش قطره چشمی مورد نیاز است.

- cination of adult sheep with reduced doses of *Brucella melitensis* strain Rev.1: Safety and serological responses. *Tropical Animal Health and Production*, 9(2):85-91.
- 16- Díaz-Aparicio, E., Marín, C., Alonso, B., Aragón, V., Perez, S., Pardo, M., Blasco, J.M., Díaz, R., Moriyón, I (1994). Evaluation of serological tests for diagnosis of *B. melitensis* infection of goats. *Journal of Clinical Microbiology*, 32:1159–1165.
- 17- Ebrahimi, M., Bagheri-Nejad R., Alamian, S., Mokhberralsafa, L., Abedini, F., Ghaderi, R., Jalali, H. R (2012). Safety and efficacy of reduced doses of *Brucella melitensis* strain Rev. 1 vaccine in pregnant Iranian fat-tailed ewes. *Veterinaria Italiana journal* 48(4):405-12.
- 18- Ebrahimi, M., (2016). Evaluation of potency of Rev.1 vaccine in adult sheep. 19th Iranian veterinary congress.
- 19- Ebrahimi, M., Alamian, S., Jalali, H. R., Emami, M., Moazeni, G. R (2007). Survey of reduced dose Rev.1 Vaccine inoculation on abortion in different period of pregnancy. AGRIS.
- 20- Elberg, S.S (1959). Immunisation against Brucella infection. Immunological and epidemiological studies in Cordoba, Spain. *Bulletin of World Health Organization*, 20:133.
- 21- Elberg S.S., Faunce, K. J (1957). Immunization against Brucella infection. VI. Immunity conferred on goats by a nondependent mutant from a streptomycin-dependent mutant strain of *Brucella melitensis*. *Journal of Bacteriology*, 73(2):211-7.
- 22- Eric Daniel., Avila-Calderón, Ahidé Lopez-Merino, Nammalwar Sriranganathan, Stephen M. Boyle, and Araceli Contreras-Rodríguez (2013). A History of the Development of Brucella Vaccines. *BioMed Research International*, Volume 2013:1-8.
- 23- Falade S., (1983). Serological response of sheep to *Brucella melitensis* Rev. 1 vaccine. *Zentralbl Veterinarmed B*, 30(7):546-51.
- 24- FAO/WHO/OIE. (1995). Round Table on the use of Rev.1 Vaccine in small ruminant and cattle Organized by FAO and CNEVA 21-22 CNEVA Alfort, Fran
- 25- FAO/WHO (1986). Expert Committee on Brucellosis. Technical Reporet Series, 740.
- 26- Fensterbank, R., Pardon, P., Marly, J (1985). Vaccination of ewes by a single conjunctival administration of *Brucella melitensis* Rev.1 vaccine. *Annales de recherches veterinaries*, 16:351–358.
- 27- Fensterbank, R., Pardon, P., Marly, J (1982). Comparison between subcutaneous and conjunctival route of vaccination with Rev. 1 strain against *Brucella melitensis* infection in ewes. *Annales de recherches veterinaries*, 13(4):295-301.
- 28- Gaumont, R., Trap, D., Dhennin, (1984). Immunization of ewes and she-goats against experimental Brucella melitensis infection. A comparison of REV 1 and H 38 vaccines. *Developments in biological standardization*, 56:629-42.
- 29- Gallego, M. C., Cuello, F., Garrido, A (1989). In vitro determination of phagocytosis and intracellular killing of *Brucella melitensis* by goat's polymorphonuclear phagocytes. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 12(1-2):9-15.
- 30- Grillo, M. J., Blasco, J. M., Gorvel, J. P., Moriyon, I., Moreno, E (2012). What have we learned from brucellosis in the mouse model. *Veterinary Research* 43:29
- 31- Jiménez de Bagüés, M.P., Elzer, P. H., Jones, S. M., Blasco, J.M., Enright, F.M., Schurig, G., Gand Winter.A. J (1994). Vaccination with *Brucella abortus* rough mutant RB51 protects BALB/c mice against virulent strains of *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, and *Brucella ovis*. *Infection and Immunity*, 62(11):4990.
- 32- Jiménez de Bagüés, M. P., Marin, C. M., Barberán, M., Blasco, J. M (1989). Responses of ewes to *B. melitensis* Rev1 vaccine administered by subcutaneous or conjunctival routes at different stages of pregnancy. *Annales de recherches veterinaries*, 20(2):205-13. Erratum in: *Annales de recherches veterinaries*; 20(3):414.
- 33- Kolar, J (1984). Diagnosis and control of brucellosis in small ruminants. *Preventive Veterinary Medicine*, 2:215–225.
- 34- Lashkarbolouki, T., Ardestani, S. K., Kariminia, A., Ziaee, A. A., Torkabadi, E., Ebrahimi, M (2008). Kinetic study of cytokines production by human peripheral blood mononuclear cells in response to Brucella DNA. *Microbiological Research*, 163(4):466-72.
- 35- Marin, C. M., Barberán, M., Jiménez de Bagüés, M. P., Blasco, J. M (1990). Comparison of subcutaneous and conjunctival routes of Rev 1 vaccination for the prophylaxis of *Brucella ovis* infection in rams. *Research in Veterinary Science*, 48(2):209-15.
- 36- Minas, A (2006). Control and eradication of brucellosis. In small ruminants. Volume 62(1-2): 101–107.
- 37- Nicoletti, P (1993). The eradication of brucellosis in animals. *Saudi Medical Journal*, 14:288–292.
- 38- OIE/FAO/WHO (2009). *Brucella melitensis* in Eurasia and the Middle East. Technical meeting, Rome.
- 39- Pishva, E., Salehi, M., Salehi, R., Ebrahimi, M (1386). Determination of Brucella species in centralarea of iran by PCR- RFLP method. *Iranian journal of Biology*, 20(1): 15-21
- 40- Plommet, M., Lasram, I (1992). Prevention of Brucellosis in the Mediterranean Countries: Proceedings of the International Seminar Organized by Ciheam, Cec, Minag (Malta), Valletta.
- 41- Grillo, M. J., Blasco, J. M., Gorvel, J. P., Moriyon, I., Moreno, E (2012). What have we learned from brucellosis in the mouse model. *Veterinary Research*, 43:29.
- 42- Verger, J.M., Grayonm, M., Zundel, E., Lechopier, P., Olivier-Bernardin, V (1995). Comparison of the efficacy of Brucella Suis

strain 2 and *Brucella melitensis* Rev. 1 live vaccines against a *Brucella melitensis* experimental infection in pregnant ewes. *Vaccine*, 13(2):191-6.

43- WHO/MZCP (1988). Report of the ISS/MZCP Technical

Meeting on *B. melitensis* Infection in Man and Small Ruminants. Rome, Teramo, 28-30.

44- WHO (1986). Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis, Technical Report 740

