



واکسن تیلریوز گاوی و نقش موسسه رازی در کنترل و پیشگیری از آن در ایران

غلامرضا حبیبی^{۱*}، اصغر افشاری^۲

۱. عضو هیات علمی (دانشیار)، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۲. محقق، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

نویسنده مسئول: غلامرضا حبیبی g.habibi@rvsri.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱-۰۲-۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱-۰۴-۲۹

چکیده

تیلریوز یا زردی، یک بیماری عفونی انگلی است. در این بیماری گلبول‌های سفید و قرمز خون گاو و یا سایر نشخوارکنندگان به تک‌یاخته تیلریا آنولاتا آلوده می‌شوند. عامل این بیماری توسط کنه‌های جنس هیالوما منتقل می‌شود. علائم بیماری بیشتر شامل تب، تورم غدد لنفاوی، خونریزی مخاطات، زردی، کم‌خونی، کاهش شیر، سقط جنین، ضعف و بی‌حالی و نهایتاً مرگ می‌باشد. عامل بیماری برای نخستین بار در سال ۱۹۰۴ تشخیص داده شد. اولین گزارش بیماری و شناسائی کنه‌های ناقل آن در ایران در سال ۱۳۱۷ توسط پروفیسور لوئی دلپی (رئیس وقت موسسه رازی) ارایه شد. سپس دکتر مقامی، دکتر فشارکی و دکتر هوشمندراد مطالعاتی در مورد جداسازی، شناسائی، نگهداری و بیماری‌زائی گونه‌های مختلف تیلریا به انجام رساندند، همچنین کشت تک‌یاخته در جهت دستیابی به فناوری تولید واکسن و ارزیابی داروهای ضد تک‌یاخته تیلریا و مطالعه سموم ضد کنه نیز در موسسه رازی صورت گرفت. نتایج این پژوهش‌ها در سال ۱۳۴۷ منجر به تولید انبوه واکسن تیلریوز در ایران با استفاده از سویه بذری می‌شد. به‌طور کلی کنترل و پیشگیری از تیلریوز با استفاده از واکسن زنده کشت سلولی و درمان بیماران با داروهای اختصاصی بر علیه تک‌یاخته تیلریا صورت می‌گیرد. استفاده از سایر روش‌های کنترلی نظیر سموم ضد کنه نیز معمول بوده ولی روش واکسیناسیون شیوه‌ای موثر، اقتصادی، دوستدار محیط زیست و کاملاً بی‌خطر و بر اساس استانداردهای جهانی می‌باشد.

واژگان کلیدی

واکسن تیلریوز گاوی، موسسه رازی، کنه



بیان مسئله و اهمیت موضوع

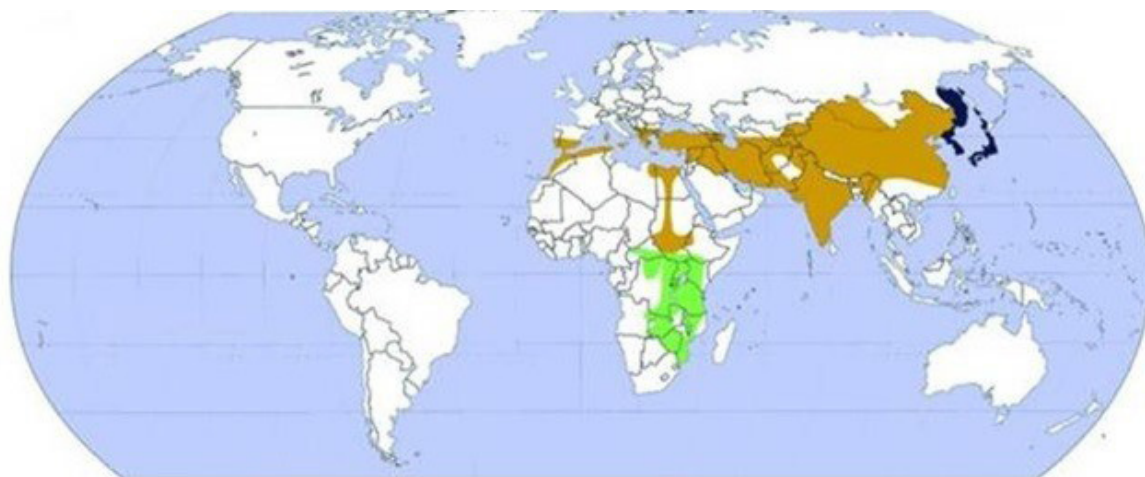
تیلریا گروهی از انگل‌های تک‌یاخته‌ای داخل سلولی هستند که موجب آلودگی نشخوارکنندگان اهلی و وحشی در بسیاری از مناطق جهان می‌شوند (تصویر ۱). البته برخی از گونه‌های تیلریا مختص نشخوارکنندگان کوچک می‌باشند. انتقال تیلریا به‌وسیله کنه‌های Ixodid صورت می‌گیرد و چرخه زندگی پیچیده‌ای در هر دو میزبان پستاندار مهره‌دار و ناقل بی‌مهره دارند. گونه‌های متعددی از انگل Theileria موجب آلودگی گاوها می‌شوند ولی دو گونه بیماری‌زای تیلریا پاروا Theileria parva و تیلریا آنولاتا Theileria annulata از نظر ایجاد بیماری و خسارات وارده از اهمیت بالایی برخوردار هستند. تیلریا آنولاتا (عامل تیلریوز گرمسیری یا مدیترانه‌ای Tropical Theileriosis) در ایران و برخی کشورهای جنوب اروپا، شمال آفریقا و آسیا موجب بیماری می‌شود، در حالی که تیلریا پاروا در آفریقا موجب تب ساحل شرقی (ECF) می‌شود. تیلریا آنولاتا در گاو، یاک، بوفالو یا گاومیش و شتر موجب بیماری می‌شود و به‌وسیله کنه‌های جنس Hyalomma منتقل می‌شود. تیلریوز گرمسیری در نژادهای اروپایی با علائم شدیدتری همراه است و میزان مرگ و میر در نژادهای اصیل به ۴۰ تا ۹۰ درصد می‌رسد، در حالی که میزان مرگ و میر در گاوهای نژاد بومی و در مناطق اندمیک اندک و حداکثر ۳ درصد است (تصویر ۲). دسته دیگر از تیلریاها گروه Theileria orientalis / buffeli است که در سراسر جهان انتشار داشته

ولی اهمیت بیماری‌زایی بالایی ندارند (۱۰). در نشخوارکنندگان کوچک، گونه تیلریا لستوکاری Theileria lestoquardi تنها گونه‌ای است که از نظر اقتصادی در گوسفند اهمیت داشته و خسارات اقتصادی قابل توجهی به‌همراه دارد، این گونه تیلریا نیز به‌وسیله کنه هیالوما منتقل می‌شود.

در فرآیند بیماری‌زایی تیلریوز گرمسیری، گلبول‌های سفید در بافت‌های لنفاوی و گویچه‌های قرمز خون حیوان به تک‌یاخته تیلریا آنولاتا آلوده شده و موجب تکثیر شدید و سرطان‌وار آن‌ها شده به طوری که تیلریوز گاوی را لکوز انگلی نیز می‌نامند. تخمین زده می‌شود حدود ۲۵۰ میلیون گاو در جهان در خطر ابتلا به تیلریوز باشند. چنانچه برای اشکال درمانگاهی بیماری درمان موثری صورت نگیرد تلفات در گاوهای وارداتی تا ۹۰ درصد بسته به سویه تک‌یاخته و حساسیت حیوان، روی خواهد داد (۲).

تاریخچه بیماری

عامل تیلریوز گرمسیری نخستین بار در سال ۱۹۰۴ میلادی (برابر با ۱۲۸۳ خورشیدی) در روسیه و توسط دانشکوفسکی و لوهز شناسایی شد (۱). یافته‌های صحرائی نشان می‌داد حیوانات بهبودیافته از اشکال بالینی بیماری در برابر آلودگی‌های بعدی مقاوم می‌باشند از این رو تلاش‌هایی به‌منظور ایمن‌سازی حیوانات بر علیه تیلریوز صورت گرفت. نخستین بار پژوهشگری بنام Theiler در سال ۱۹۱۱ (۱۲۹۰)



تصویر ۱. توزیع جغرافیایی سه گونه مهم و بیماری‌زای تیلریا در گاو. ۱. رنگ سیاه معرف تیلریا اورینتالیس در آسیای شرق دور. ۲. رنگ قهوه‌ای نشانگر حضور تیلریا آنولاتا در مناطق وسیعی از آسیا، شمال آفریقا و جنوب اروپا. ۳. رنگ سبز مربوط به تیلریا پاروا که محدود به قاره آفریقا است (۳).

شده و چرخه زندگی تیلریا بوسیله کنه‌ها تکمیل می‌شود. کنه‌ها در طول زندگی خود در هر سه مرحله لارو (نوزادی)، نمف (مرحله میانی) و شکل بالغ می‌توانند به میزبان‌های جدید متصل شده، تغذیه و خونخواری کنند ولی کنه هیالوما به عنوان ناقل دو میزبان، فقط در مراحل لارو و نمف می‌تواند باعث انتقال عوامل بیماری‌زا به دام پاک شود (تصویر ۳).

در چرخه زندگی تیلریا، برخی از شیزونت‌ها در لکوسیت‌ها به مروزوایت تمایز پیدا می‌کنند که پس از رها شدن از سلول میزبان به اریتروسیت‌ها حمله‌ور شده و اشکال داخل گلبول قرمز انگل شکل می‌گیرد که این مرحله برای کنه عفونت‌زا است (تصویر ۴). آلودگی گلبول‌های قرمز خون به فرم اریتروسیتی تیلریا نهایتاً در دام میزبان منجر به کم خونی (Anemia) و زردی می‌شود. پس از ۳-۴ هفته از شروع عفونت، ممکن است تلفات روی دهد که البته در نژادهای حساس وارداتی یا اصیل احتمال این پدیده نسبت به حیوانات بومی و دو رنگ بیشتر است. شدت پارازیتمی (درصد آلودگی گلبول‌های قرمز خون) به‌طور معمول در گاوهای اصیل بیش از ۶۰ درصد، در گاوهای دورگ ۴۵ درصد و در گاوهای بومی به ۲۵ درصد می‌رسد. معمولاً گاوهای بومی (Indigenous) یا نژادهای *Bos indicus* کمتر به عوارض شدید بیماری دچار می‌شوند. در مقابل نژادهای اروپایی پر تولید *Bos taurus* بسیار حساس بوده و بیماری با خسارات و تلفات بیشتری در آنها ظاهر می‌شود (۱۱).

از ویژگی‌های مهم شیزونت تیلریا، تاثیر آن بر روی سلول میزبان است که همزمان با رشد و تمایز تک‌یاخته، پرولیفراسیون یا تکثیر سلول میزبان نیز صورت می‌گیرد

خورشیدی) نشان داد که با انتقال سلول‌های آلوده به تیلریا یا منشا دام بهبود یافته از تیبریوز به گاوهای حساس می‌توان آنها را در مقابل چالش با انگل حاد تیلریا پاروا مقاوم و ایمن نمود. بعدها با توسعه روش‌های کشت سلول‌های آلوده به شیزونت انگل و همچنین روش‌های انجماد سلولی (هر دو مرحله اسپوروزوایت و سلول آلوده به شیزونت) در سال‌های ۱۹۶۰ و ۱۹۷۰ (به ترتیب ۱۳۳۹ و ۱۳۴۹ خورشیدی) امکان مطالعه و تولید واکسن‌های زنده فراهم شد به طوری که مشخص شد که کشت طولانی مدت سلول‌های آلوده به تیلریا باعث کاهش حدت تک‌یاخته شده و حیوانات تلقیح شده با چنین سلول‌هایی در برابر چالش بعدی با سویه حاد انگل، مقاومت نشان می‌دهند (جدول ۱) (۱).

مشخصات عامل بیماری

تک‌یاخته تیلریا آنولاتا (با نام قدیم تیلریا دیسپار) عامل تیبریوز گرمسیری است که به‌وسیله کنه‌های جنس هیالوما به گاو منتقل می‌شود. از نظر طبقه‌بندی تک‌یاخته‌های تیلریا متعلق به زیرشاخه اپی‌کمپلکسا هستند. این تک‌یاخته‌ها غالباً انگل نشخوارکنندگان بوده ولی گونه تیلریا اکوئی عامل تیبریوز در اسب می‌باشد. از ۱۵ گونه تیلریا در نشخوارکنندگان دو گونه آنولاتا و پاروا در گاو از اهمیت بیشتری برخوردار است که بیشترین خطر و آسیب را به حیوان وارد می‌سازند در مقابل گونه‌های کم‌خطر تیلریا اورینتالیس در گاو و تیلریا اکوئی در اسب وجود دارند که بیشتر به گلبول‌های قرمز خون تمایل دارند (۱۱).

همانطور که پیشتر بیان شد انتقال تیبریوز بوسیله کنه‌ها انجام



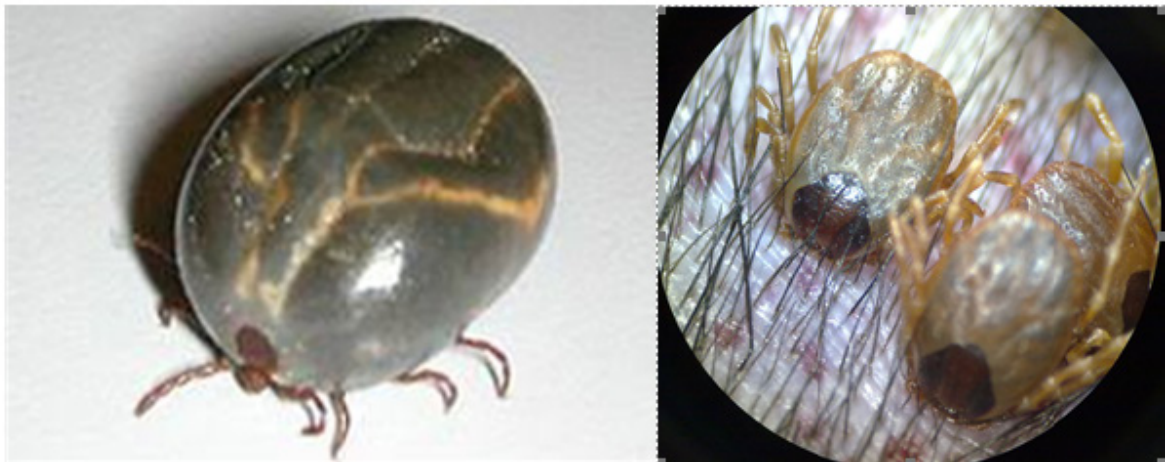
تصویر ۲. نژادهای حساس و مقاوم به تیبریوز گاوی. تصویر راست نژاد گاو اصیل و پر تولید (*Bos Taurus*) که حساس به تیبریوز بوده و در تصویر چپ نژاد گاو بومی (*Bos indicus*) که مقاوم به تیبریوز می‌باشد (۲).

سلول‌های آلوده به شیزونت تیلریا را می‌توان در شرایط آزمایشگاهی در محیط‌های کشت سلولی در شرایط استریل به راحتی کشت داد و طی پاساژهای متوالی به رده‌های سلولی تخفیف حدت یافته دست یافت که در تولید واکسن بر علیه تیلریوز حاد و به‌منظور ایمن‌سازی گاوهای حساس می‌توان از آن استفاده کرد (تصویر ۵) (۴، ۵).

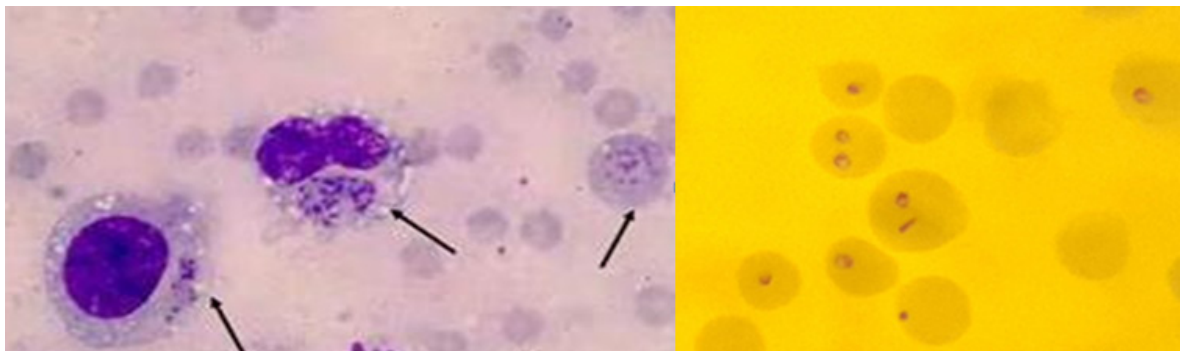
نشانه‌های بیماری

علائم تیلریوز شامل تب، تورم غدد لنفاوی، خونریزی

این پدیده در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) و در بدن (in vivo) حیوان حساس نشان داده شده که نهایتاً سبب تکثیر مداوم سلول‌های لکوسیت آلوده به شیزونت به شکل سلول‌های نامیرا (Cell line) می‌شود به طوری که تقسیم و تکثیر سلول میزبان و تک‌یاخته همزمان صورت می‌گیرد (۲). در بدن میزبان نیز این پدیده موجب تغییر سلول و تکثیر سریع و فزاینده سلول‌های آلوده شده به طوری که در سراسر سیستم لنفاوی بدن پراکنده شده و منجر به تکثیر شدید سلولی و نهایتاً تخریب گسترده بافت‌های لنفوئیدی در بدن می‌شوند (۲).



تصویر ۳. کنه هیالوما، ناقل تیلریا آنولاتا در مرحله اتصال و خونخواری (راست) و بالغ خون خورده (چپ) دیده می‌شود (تهیه شده در بخش تحقیق و تولید واکسن‌های انگلی موسسه رازی).



تصویر ۴. نمای میکروسکوپی تک یاخته تیلریا در گسترش‌های رنگ آمیزی شده با گیمسا. تصویر چپ، شیزونت تیلریا در گلبول‌های سفید و در تصویر راست اشکال پیروپلاسمی انگل در داخل گلبول‌های قرمز خون دیده می‌شوند (تهیه شده در بخش تحقیق و تولید واکسن‌های انگلی موسسه رازی).

به خصوص کنه‌ها صورت می‌پذیرد، اما کنترل کنه‌ها نسبت به روش‌های دیگر از اهمیت کمتری برخوردار است زیرا اولاً هزینه استفاده از سموم (Acaricide) بالا بوده و ثانياً بر اثر مصرف سموم تدریجاً مقاومت ایجاد می‌شود. در ضمن، روش‌های حمل و نقل دام و قرنطینه به‌طور جدی قابل اجرا نمی‌باشند. علاوه بر اینکه استفاده از سموم شیمیایی موجب آلودگی محیط زیست نیز می‌گردد.

درمان دارویی

درمان دام‌های بیمار مبتلا به تیلریوز معمولاً با داروهای Parvaquone, Buparvaquone, Halofuginone، که برای هر دو گونه *T. annulata* و *T. lestoquardi* موثر می‌باشند صورت می‌گیرد. اما درمان‌ها موجب از بین بردن کامل عفونت در دام مبتلا نمی‌شوند. درمان‌های دارویی اختصاصی با استفاده از ترکیبات فسفات پریماکویین و داروهای تقویتی خون ساز و ویتامین‌ها و املاح همگی تاثیر چندان مناسبی در روند خونسازی نداشته و انتقال خون نیز مشکل و هزینه بر است که تنها در حیوانات پرارزش توصیه می‌شود.

استفاده از واکسن

واکسیناسیون بی‌شک بهترین روش کنترل و پیشگیری از بیماری است. بهترین واکسن موجود برای پیشگیری از تیلریوز گرمسیری، استفاده از واکسن زنده تخفیف حدت یافته شیزونت تیلریا Schizont-infected cell lines می‌باشد. این واکسن که حاوی سلول‌های منوسیت ماکروفاژی گاوی

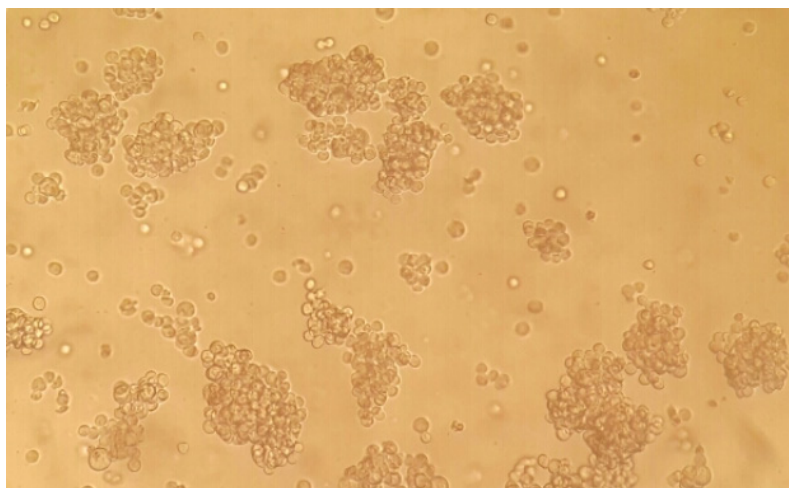
مخاطات، زردی، کم‌خونی، اسهال و بی‌وست، کاهش اشتها، کاهش نشخوار و توقف حرکات گوارشی، خون در مدفوع، کاهش شیر، سقط، لاغری و کاهش وزن، ضعف و بی‌حالی، عدم تمایل به حرکت و نهایتاً مرگ در یک تا دو هفته پس از شروع اولین علائم بیماری است در غیر این صورت دام‌های بهبودیافته به سختی به وضعیت طبیعی برمی‌گردند. تشخیص آزمایشگاهی بیماری با تهیه گسترش خون محیطی و مشاهده اجرام داخل گلبول قرمز خون (فرم اریتروسیته) صورت می‌گیرد. چنانچه درمان موثری در ابتدای بیماری صورت نگیرد بسته به سویه تک‌یاخته و حساسیت حیوان، در گاوهای وارداتی تا ۹۰ درصد تلفات روی خواهد داد (۱، ۲، ۱۱).

روش‌های کنترل، مبارزه و پیشگیری از تیلریوز

کنترل بیماری از راه‌های مختلف شامل درمان‌های دارویی، مبارزه با کنه‌های ناقل و پیشگیری از طریق واکسیناسیون صورت می‌گیرد. امروزه تنها واکسن موجود که مورد تأیید سازمان OIE می‌باشد واکسن زنده کشت سلولی است که برای ایمن‌سازی علیه تیلریوز در مناطق آلوده به عامل بیماری (مناطق آنزوتیک) در دنیا مصرف می‌شود. این واکسن زنده تخفیف حدت یافته است که در ایران و چند کشور دیگر (روسیه، هند، چین، ترکیه، تونس و فلسطین) ساخته و مصرف می‌شود (۱۱).

استفاده از سموم ضد کنه

در بیشتر کشورها مبارزه با تیلریوز از طریق کنترل ناقلین



تصویر ۵. سلول‌های تغییر یافته حاوی شیزونت تیلریا در محیط کشت سلولی و در شرایط آزمایشگاهی که برای تهیه و تولید واکسن مورد استفاده قرار می‌گیرند (تهیه شده در بخش تحقیق و تولید واکسن‌های انگلی موسسه رازی).

پروتئین نو ترکیب جهت ایمن‌سازی استفاده شده و نتایج آزمایشات روی حیوان حساس نشانگر ایمنی نسبی و کاهش شدت بیماری در گروه دریافت کننده آنتی‌ژن در مقایسه با گروه کنترل غیر ایمن بوده است (۹).

علاوه بر آنتی‌ژن فوق، استفاده از آنتی‌ژن نو ترکیب مرحله اسپوروزوایت تیلریا بنام SPAG-1 نیز مورد آزمایش قرار گرفته است. نتایج بررسی نشان داد که شدت علائم بالینی و میزان پارازیتمی کاسته شده و در مجموع ۵۰٪ از حیوانات، ایمنی کافی در برابر چالش با سویه حاد تیلریا از خود نشان دادند در حالی که گروه کنترل غیرایمن هیچگونه مقاومتی در برابر چالش نشان ندادند (۹).

۳) واکسن‌های ضد کنه

از آنجایی که کنه‌ها میزبان بی‌مهره و ناقل تیلریا می‌باشند می‌توان با حذف یا کاهش جمعیت کنه به مبارزه بر علیه بیماری پرداخت. بنابر گزارشات، مصرف این واکسن موجب کاهش میزان آلودگی کنه، کاهش میزان مصرف سموم ضد کنه، افزایش تولید دام و کاهش بیماری‌های منتقله به وسیله کنه شده است. این روش نسبتاً جدید بوده و در دو کشور کوبا و استرالیا ابداع و واکسن آن تجاری شده به طوری که با تولید آنتی‌بادی بر علیه آنتی‌ژن‌های روده کنه به شکل واکسن‌های نو ترکیب قابل استفاده می‌باشد. در این روش دام میزبان، قبلاً با استفاده از واکسن ضد کنه ایمن شده و در هنگام مواجهه با کنه در هنگام خونخواری، آنتی‌بادی‌های موجود در خون حیوان پس از بلع وارد روده کنه شده و با تماس با سلول‌های روده کنه موجب مرگ کنه می‌شود (۸).

دستاوردها

در ایران در موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سابقه تحقیقات مربوط به بیماری‌های انگلی و کنه‌های ناقل به سال ۱۳۱۷ خورشیدی باز می‌گردد. پروفیسور لویی دلی تحقیقات اولیه خود را در زمینه شناسایی کنه‌های ناقل عوامل بیماری‌زا در ایران انجام داد. سپس دکتر رفیعی، دکتر مقامی، دکتر هوشمندراد و دکتر هاشمی فشارکی تحقیقات با ارزشی روی شناسایی و بیماری‌زایی تیلریاها انجام دادند. همچنین ارزیابی داروهای ضد تک‌یاخته تیلریا و مطالعه سموم ضد کنه و ارایه برنامه منظم جهت کنترل کنه‌های ناقل و تلاش برای کشت تک‌یاخته‌های خونی نسجی در جهت دستیابی به فن آوری تولید واکسن صورت گرفت (۱).

تاریخچه بررسی‌های اولیه مربوط به تولید واکسن زنده کشت نسجی تیلریوز به سال ۱۹۶۲ (برابر با ۱۳۴۱ خورشیدی) باز می‌گردد ولی استفاده گسترده و تجاری واکسن تهیه شده در ایران از سال ۱۹۶۸ میلادی (برابر با ۱۳۴۷ خورشیدی) می‌باشد. تولید واکسن تیلریوز گاوی و بهینه کردن آن در

حاوی شیزونت تیلریا می‌باشد باید به طور منجمد نگهداری و فقط در هنگام مصرف ذوب و بلافاصله به دام تزریق شود.

انواع واکسن‌های تولید شده بر علیه تیلریوز

محققین در گذشته دریافت کرده‌اند که حیوانات بهبود یافته از بیماری، در برابر آلودگی‌های بعدی به تیلریا از خود مقاومت نشان می‌دهند از این رو تلاش‌هایی به منظور ایمن‌سازی حیوانات بر علیه تیلریوز صورت گرفت. تلاش‌های بعدی دانشمندان منجر به تولید واکسن‌های مختلفی با رهیافت‌های گوناگون گردید (۱، ۲).

۱) واکسن تخفیف حدت یافته تیلریا آنولاتا

امروزه روش مناسب و مورد تاکید سازمان‌های بهداشتی استفاده از واکسن کشت سلولی تیلریوز است. این واکسن به منظور پیشگیری از تیلریوز گرمسیری با استفاده از رده‌های سلولی حاوی شیزونت تخفیف حدت یافته تیلریا آنولاتا می‌باشد که کشورهای مختلف به تهیه و تولید آن اقدام می‌کنند (۱۱).

با توسعه روش‌های کشت سلول‌های حاوی شیزونت تک یاخته و همچنین روش‌های انجماد سلولی امکان بررسی و مطالعه روی تولید واکسن‌های زنده فراهم شد. معمولاً تزریق ۵-۱ میلیون سلول آلوده به سویه حاد تیلریا آنولاتا منجر به عفونت گردیده و بخشی از این حیوانات مبتلا به فرم درمانگاهی تیلریوز شده و تعدادی هم تلف می‌شوند. این در حالی است که کشت‌های حاصل از پاساژهای طولانی رده‌های سلولی حاوی شیزونت تیلریا موجب کاهش حدت انگل شده و دزهای ۱۰ میلیون سلول آلوده نیز تنها یک واکنش حرارتی مختصر و گذرا ایجاد می‌کند و حیوانات تلقیح شده در برابر چالش بعدی با سویه حاد، از خود مقاومت نشان می‌دهند. سویه واکسن تیلریوز ایران نیز با طی بیش از ۲۶۰ پاساژ، حدت و بیماری‌زایی خود را از دست داده و ایمنی محافظت کننده مطلوبی ایجاد می‌کند. هر دز واکسن تیلریوز، حاوی حداقل تعداد سلول آلوده به شیزونت تخفیف حدت یافته تیلریا است (۵-۱ میلیون سلول) که با ایجاد عفونت کنترل شده در بدن حیوان، ایمنی محافظت کننده‌ای در برابر سویه‌های بیماری‌زا ایجاد می‌کند.

۲) واکسن‌های نو ترکیب تیلریا

هر چند استفاده از واکسن زنده تخفیف حدت یافته بر علیه تیلریوز موفقیت آمیز بوده و کارایی مطلوبی در مزارع و دامداری‌ها نشان می‌دهد ولی به دلایلی همچون مشکلات اجرایی در مسیر نقل و انتقال واکسن و هزینه بالا، تلاش‌هایی در جهت تولید واکسن‌های جایگزین بر مبنای آنتی‌ژن‌های اختصاصی تک‌یاخته در حال اجرا می‌باشد (۹).

در سال‌های اخیر از آنتی‌ژن سطحی مروزوایت تیلریا به شکل

جدول ۱ - تاریخچه تحقیقات و یافته‌های تیلریوز گاوی با تاکید بر مطالعات انجام شده در ایران.

نام محقق یا محققین	عنوان مطالعه یا بررسی
Dschunkowsky and Luhs, ۱۹۰۴	اولین گزارش مربوط به کشف تیلریا آنولاتا
Sergent et al, ۱۹۳۲	استفاده از خون حاوی سویه‌های ضعیف تیلریا دیسپار برای ایجاد ایمنی در گاوهای حساس
Sergent and Lestoquard, ۱۹۲۷	بررسی سویه‌ها و گونه‌های مختلف تیلریا در الجزایر
پروفسور لوئی دلپی ۱۹۳۶	بررسی کنه‌های ناقل بیماری‌های دامی در موسسه رازی
Tsur and Adler, ۱۹۶۲	اولین گزارش مربوط به کشت سلول‌های حاوی شیزونت تیلریا در شرایط آزمایشگاهی
هوشمندراد و هاشمی فشارکی ۱۳۴۱	جداسازی سویه و صفنارد تیلریا آنولاتا که بعدها برای تولید واکسن در موسسه رازی استفاده شد
رفیعی، مقامی و هوشمندراد ۱۹۶۷	نگهداری سویه‌های مختلف تیلریا و بازپیا به شکل منجمد در آزمایشگاه در موسسه رازی
هوشمندراد و هاشمی فشارکی ۱۹۶۸	اولین گزارش مربوط به کشت معلق یا سوسپانسیون سلول‌های حاوی شیزونت تیلریا آنولاتا به منظور تولید واکسن در موسسه رازی
Pipano, ۱۹۷۱	گزارش مربوط به عدم عفونت زایی سویه واکسن تیلریا آنولاتا برای کنه‌های ناقل
هاشمی فشارکی ۱۹۷۳	تولید و تزریق گسترده واکسن تیلریوز گاوی در ایران با دو سویه مختلف S۱۱ و S۱۵
هاشمی فشارکی ۱۳۶۵	انتشار کتاب تیلریوز گاوی در ایران
هاشمی فشارکی ۱۹۸۸	انتشار گزارش کنترل تیلریوز در ایران با تزریق واکسن تیلریوز به بیش از ۱۰۰ هزار گاو
هاشمی فشارکی ۱۹۹۸	واکسیناسیون بر علیه تیلریوز گاوی با استفاده از یک سویه S۱۵ ساخت موسسه رازی
هاشمی فشارکی ۱۹۹۸	گزارش تست جلدی تیلرین به عنوان آزمونی برای ارزیابی ایمنی دام‌های واکسینه شده بر علیه تیلریوز گاوی
حیبی و همکاران ۲۰۰۷	تشخیص و شناسایی ملکولی تیلریا سویه واکسن ایران جهت شناسنامه واکسن
حیبی و همکاران ۲۰۰۸	تشخیص تفریقی تیلریا آنولاتا از گونه لستوکاردی با روش PCR
حیبی ۲۰۱۲	آنالیز فیلوژنی ملکولی تیلریا آنولاتا سویه واکسن S۱۵ از سایر سویه‌ها و گونه‌ها
حیبی و همکاران ۲۰۱۴	بررسی ایمنی سلول‌های حاوی شیزونت تیلریا آنولاتا سویه واکسن S۱۵ کشت شده در سیستم بیوراکتور هوازی
حیبی و همکاران ۲۰۱۴	کشت سلول‌های حاوی شیزونت تیلریا آنولاتا سویه واکسن S۱۵ در سیستم بیوراکتور هوازی
مدیرروستا و همکاران ۲۰۱۹	آنالیز کرایواستابیلیت عفونی حاوی اسپوروزوایت تیلریا آنولاتا
افشاری و همکاران ۲۰۲۰	تولید کرایواستابیلیت عفونی حاوی اسپوروزوایت تیلریا آنولاتا



و فیلورنی به عمل آمده با استفاده از ژن rRNA در مورد تعدادی از ایزوله‌ها و سویه‌های واکسن ایران و حتی ایزوله‌های کشور عراق قرابت بسیار بالایی مشاهده شده است. بنا به اظهار سازمان بهداشت بیماری‌های دامی OIE واکسن تیلریوز گاوی دارای ایمنی متقاطع در میان سویه‌های مختلف است (۲، ۱۰، ۱۱).



تصویر ۶. تقسیم محیط کشت رده سلولی واکسن در فلاسک‌های کشت سلولی (تهیه شده در بخش تحقیق و تولید واکسن-های انگلی موسسه رازی).

توصیه ترویجی

با توجه به پراکندگی وسیع کنه‌های ناقل در اکثر نقاط کشور و همچنین کشورهای همسایه و از طرفی وجود میزبان‌های نشخوارکننده اهلی و وحشی (اخیراً سگ نیز به عنوان حامل تک‌یاخته مطرح شده است)، مضافاً جابجایی‌های کنترل نشده دام در بین استان‌ها و ریسک تلفات ۹۰ درصدی تیلریوز در گاوهای نژاد اصیل (وارداتی)، همگی به این نکته مهم اشاره دارد که امکان ریشه‌کنی بیماری وجود نداشته و لازم است برنامه‌های پیشگیری و کنترل، در مناطق آلوده که دام‌های حساس و پر تولید نگهداری می‌شوند، به دقت صورت گیرد. هر چند کنترل بیماری از راه‌های مختلفی شامل درمان‌های دارویی، مبارزه با کنه‌های ناقل و پیشگیری از طریق واکسیناسیون صورت می‌گیرد ولی امروزه تنها راه مورد تأیید سازمان جهانی بهداشت دام (OIE) استفاده از واکسن تخفیف حدت یافته تیلریوز می‌باشد. واکسن موجود از نوع زنده کشت سلولی است که برای ایمن‌سازی بر علیه تیلریوز در مناطق آلوده به عامل بیماری (مناطق آنزوتوتیک) در دنیا مصرف می‌شود. با توجه به این که لازم است سلول‌های حاوی شیزونت بطور زنده به حیوان حساس تلقیح شوند و در اختیار سیستم ایمنی حیوان گیرنده قرار گیرند از این رو لازم است واکسن تیلریوز گاوی پس از تولید در ترکیبی

چند مرحله شامل تهیه کشت نسجی معلق یا سوسپانسیون از سلول‌های مونوسیت/ماکروفاژ حاوی شیزونت تیلریا آنولاتا برای اولین بار در سطح بین‌المللی در موسسه رازی صورت گرفت (جدول ۱). سابقه تولید واکسن با تحقیقات انجام شده بر روی ایزوله‌های بدست آمده از حیوانات بیمار و تهیه رده‌های سلولی محلی و انجام آزمایشات جهت بررسی‌های بیولوژیکی و آسیب‌شناسی و همچنین ایمونولوژی حیوانات تحت آزمایش صورت گرفت که منجر به تلقیح وسیع واکسن در سطح گسترده‌ای در کشور گردید به طوری که امروزه از تمامی استان‌های کشور جهت واکسیناسیون دام‌های اصیل و دورگ تقاضای واکسن وجود دارد (۵، ۷).

پژوهشگران موسسه رازی تحقیقات با ارزش و مهمی روی شناسایی و بیماری‌زایی گونه‌ها و سویه‌های تیلریا، ارزیابی داروهای ضد تک‌یاخته و مطالعه سموم ضد کنه و ارایه برنامه منظم جهت کنترل کنه‌های ناقل انجام دادند و از همه مهم‌تر تلاش برای کشت تک‌یاخته‌های خونی نسجی در جهت دستیابی به فناوری تولید واکسن صورت گرفت. تولید واکسن تیلریوز با استفاده از سویه محلی و کشت سوسپانسیون آن برای نخستین بار در سطح بین‌المللی انجام شد و به تولید گسترده آن در سطح ملی منجر گردید. از ویژگی‌های مهم واکسن تیلریوز تولید موسسه رازی این است که متعاقب پاساژهای مکرر و طولانی، قدرت تمایز به شکل داخل گلبول قرمز (اریتروسیتی) را از دست داده و بنابراین سلول واکسن (شیزونت تخفیف حدت یافته) قدرت عفونت‌زایی و تولید اجرام داخل گلبول قرمز برای تشکیل مرحله گامتوگونی و ادامه چرخه زندگی تک‌یاخته در بدن کنه ناقل را ندارد و با مصرف واکسن، چرخه زندگی انگل کامل نخواهد شد.

بر اساس تجربیات صحرائی، تاثیر واکسن زنده تخفیف حدت یافته در برابر سویه‌های محلی به خوبی ثابت شده و همچنین محافظت‌کنندگی آن در برابر سویه‌های هترولوگ (Cross protection) مربوط به مناطق و کشورهای همسایه نظیر تاجیکستان و ازبکستان نیز که از واکسن موسسه رازی استفاده کرده‌اند به اثبات رسیده است. البته براساس تجربیات موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، در طول نزدیک به پنج دهه مصرف گسترده واکسن در استان‌های مختلف ایران و اخیراً سه سال صادرات واکسن به کشورهای ازبکستان و تاجیکستان، هیچ‌گونه عوارض جدی و نامطلوبی از آن گزارش نشده و به تأیید سازمان دامپزشکی کشور نیز رسیده است (تصویر ۶) ضمن این که اشتیاق بالایی از سوی مصرف‌کنندگان داخلی و خارجی با توجه به اثرات کنترلی و موثر آن در ایمن‌سازی و کنترل بیماری با این واکسن وجود دارد. دلیل این موفقیت شاید به علت تشابهات مولکولی موجود در ساختار آنتی‌ژنی ایزوله‌ها و سویه‌های مختلف تیلریا آنولاتا باشد به طوری که بررسی‌های ملکولی

می‌شود.

همچنین در دام‌های واکسینه، ممکن است تب خفیف و زودگذر و تورم عقده‌های لنفاوی نزدیک به محل تزریق دیده شود که این عوارض گذرا بوده و خود به خود برطرف خواهند شد.

نکته بسیار مهم در مورد واکسن تیلریوز حفظ زنجیره سرد و نگهداری آن در برودت مناسب (۷۰- درجه سانتی‌گراد و کمتر) می‌باشد که لازم است هنگام مصرف ویال‌های واکسن به تعداد لازم ذوب و بلافاصله در مدت یک ساعت تمامی سوسپانسیون واکسن استفاده شود در غیر این صورت لازم است باقیمانده از بین برده شود چرا که انجماد دوباره آن مجاز نبوده و موجب از بین رفتن سلول‌های واکسن می‌شود و استفاده از آن به هیچ وجه توصیه نمی‌شود. بنابراین لازم است تمامی دام‌های سالم موجود در محل جمع‌آوری و به‌طور هم‌زمان واکسینه شوند.

به منظور اطمینان از سلامت واکسن و جلوگیری از سو استفاده‌های احتمالی، ضروری است واکسن از شبکه‌های توزیع رسمی و مجاز، نظیر سازمان دامپزشکی و یا از طریق دامپزشکان مجرب و مطمئن تهیه شود.



تصویر ۷. ویال واکسن تیلریوز گاوی (تهیه شده در بخش تحقیق و تولید واکسن‌های انگلی موسسه رازی).

حاوی مواد محافظت کننده از سرما (Cryoprotective agent) شامل گلیسرول در محیطی ایزوتونیک ذخیره و در برودت عمیق نگهداری و به صورت منجمد به دامداری‌ها منتقل شود و پس از ذوب بلافاصله به دام تلقیح شود. بنابراین تا زمان مصرف فرآورده ضروری است زنجیره سرد حفظ گردد (۱۱).

از آنجایی که ویال واکسن در دمای بسیار پایین (۷۰- و یا ۱۹۶- درجه سانتی‌گراد) نگهداری می‌شود تماس آن با دست خطرناک بوده و لازم است در هنگام کار از دستکش و ماسک محافظ صورت استفاده شود (تصویر ۷).

واکسن تیلریوز در ویال‌های مقاوم به سرمای ۱۹۶- درجه سانتی‌گراد تهیه و بسته‌بندی شده و احتمال ورود اذیت مایع به درون ویال‌های واکسن وجود دارد که با بیرون آوردن ویال‌ها از اذیت مایع در هنگام استفاده، تبدیل سریع اذیت مایع به گاز و افزایش فشار داخل ویال ممکن است خطراتی به همراه داشته باشد که توصیه می‌شود اولاً تعداد کافی ویال واکسن، از مخزن اذیت خارج و به مدت دو دقیقه در یک جعبه مقوایی یا یونولیت ساده قرار داده شوند تا اذیت آن کاملاً تبخیر شود و سپس ویال واکسن را در آب ولرم (۳۷ درجه سانتی‌گراد) قرار داده تا واکسن به مایع تبدیل و آماده تزریق شود. به منظور یکنواخت نمودن سوسپانسیون واکسن، ویال را به آرامی چندین بار سر و ته کرده، سپس سوسپانسیون واکسن را با سرنگ کشیده و به هر حیوان (گاوی/گوساله) به میزان یک میلی‌لیتر از راه زیر جلدی در ناحیه گردن، نزدیک به غده لنفاوی پیش کتفی تزریق شود.

بهترین زمان واکسیناسیون اواخر پاییز تا پایان زمستان و قبل از شروع فعالیت کنه‌های ناقل بیماری می‌باشد (این موضوع در استان‌های مختلف کشور بسته به آب و هوای منطقه متفاوت می‌باشد). تجویز واکسن از سن دو ماهگی آغاز و هر سال لازم است تزریق یادآور تکرار شود.

بر اساس منابع علمی، طول دوره ایمنی به دست آمده متعاقب واکسیناسیون در دام‌های واکسینه، متغیر بوده ولی به نظر می‌رسد ایمنی واکسن مادام‌العمر نبوده و این مدت در گاوهای واکسینه بین شش ماه تا سه و نیم سال متغیر می‌باشد. هیچ‌گونه منعی از نظر مصرف واکسن تیلریوز برای دام وجود ندارد ولی به منظور کاهش استرس و سقط در حیوانات آبستن و نیز در دام‌های تازه زایمان کرده پیشنهاد می‌شود از تزریق واکسن به این دسته از دام‌ها و همچنین به دام‌های بیمار و ضعیف خودداری شود. در ضمن برای دام‌هایی که در سه هفته آینده کشتار خواهند شد، نباید واکسن تجویز شود.

واکسن فاقد عوارض جانبی مهم بوده ولی به دلایل حساسیت‌های فردی ممکن است به ندرت واکنش‌های آنافیلاکتیک رخ دهد که در چنین مواردی تجویز داروهای مناسب نظیر آدرنالین زیر نظر دکتر دامپزشک توصیه



فهرست منابع

- 7) Hashemi-Fesharki, R., Habibi, G.R. and Ahourai, P. (1998). Delayed type hypersensitivity theilerin test in cattle vaccinated against *Theileria annulata* infection. *Veterinary Parasitology*. Vol, 75, No, 2-3. pp: 261-3.
- 8) Jeyabal L, Azhahianambi P, Susitha K, Ray DD, Chaudhuri P, Vanlahmuaka, Ghosh S. Efficacy of rHaa86, an orthologue of Bm86, against challenge infestations of *Hyalomma anatolicum anatolicum*. *Transbound Emerg Dis*. 2010 Apr;57(1-2):96-102.
- 9) Kar PP, Srivastava A. Immuno-informatics Analysis to Identify Novel Vaccine Candidates and Design of a Multi-Epitope Based Vaccine Candidate Against *Theileria* parasites. *Front Immunol*. 2018 Oct 15;9:2213.
- 10) Morrison WI, McKeever DJ. Current status of vaccine development against *Theileria* parasites. *Parasitology*. 2006;133 Suppl:S169-87.
- 11) OIE (World Organization for Animal Health), *Theileriosis* (2018). https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.04.14_THEILIERIOSIS.pdf.
- 1) رضا هاشمی فشارکی (۱۳۶۵). تیلریوز گاوی در ایران. انتشارات موسسه رازی - سازمان تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی.
- 2) Ahmed JS, Glass EJ, Salih DA, Seitzer U. Innate immunity to tropical theileriosis. *Innate Immun*. 2008; 14(1): 5-12.
- 3) Distribution of *Theileria annulata*, Wellcome Trust, <http://www.theileria.org/ahdw/background.htm> (July 2022).
- 4) Hashemi-Fesharki R. and Shad-Del F. (1973). Vaccination of calves and milking cows with different strains of *Theileria annulata*. *American Journal of Veterinary Research*. Vol, 34, No, 11. pp: 1465-7.
- 5) Hashemi-Fesharki, R. (1988). Control of *Theileria annulata* in Iran. *Parasitology Today*. Vol, 4, No, 2. pp: 36-40.
- 6) Hashemi-Fesharaki, R. (1998). Recent development in control of *Theileria annulata* in Iran. *Parasite*. Vol, 5, No, 2. pp: 193-6.

