



Scan online to view this article

Study of immune responses of enterotoxemia vaccine in Kermani sheep and goats

Akbar Asadi^{*1}, Anahita Emadi², Navid Asadi³

1. Shahr Babak Islamic Azad University, Shahr Babak, Iran
2. Department of Microbiology, Razi Vaccine and Serum Research Institute Karaj, Iran
3. Bahonar University, Kerman, Iran.

Abstract

Aim and Background: Enterotoxemia occurs following absorption of large amounts of toxin through the intestinal wall. The causing agent of this disease is *Clostridium perfringens*. The present study compares immune responses following the administration of enterotoxaemia vaccine in Kermani sheep and goats.

Material and methods: Two groups consisting of 30 sheep and 30 healthy goats of the same breed were selected. Each of these groups was then divided into three subgroups of ten. One subgroup of ten sheep and goats formed the control group, which received no vaccination in the course of the study. The second subgroup received vaccination only once, and the last subgroup was vaccinated twice. Blood samples were taken from these 60 animals on day 1, 15, 30, 45, 60, and 75 after vaccination, and antibody titer and duration of immunity were determined by ELISA test.

Results: The antibody titer during the study in the control subgroup was zero. In subgroup 2, sheep that received only one dose of vaccine had a mean antibody titer of 0.428 and in goats 0.097. In subgroup 3, sheep that received two vaccinations, the mean antibody titer was 0.772 and in goats it was 0.408. Immunity duration was longer in sheep than in goats.

Conclusion: The results showed significant differences in antibody titer and duration of immunity between animals that received booster doses compared to those that were vaccinated only once. Moreover, antibody titer approached zero much earlier in goats than in sheep.

Key words: Enterotoxemia, *Clostridium perfringens*, vaccine, antibody, sheep and goats, IAU Science.

Corresponding author:

Shahr Babak Islamic Azad University, Shahr Babak, Iran

Email: Dr.asadi44@yahoo.com



برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

مطالعه پاسخ‌های ایمنی واکسن آنترتوکسمی

در گوسفند و بز کرمانی

اکبر اسدی^{۱*}، آناهیتا عمادی^۲، نوید اسدی^۳

۱. دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر بابک، ایران

۲. مؤسسه واکسن و سرم سازی رازی، کرج، ایران

۳. گروه دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: بروز بیماری آنترتوکسمی به دنبال جذب مقادیر زیادی توکسین از دیواره روده است. عامل بیماری باکتری *کلوستریدیوم پرفرنژنس* است. هدف از این مطالعه، مقایسه پاسخ‌های ایمنی پس از تزریق واکسن آنترتوکسمی در گوسفند و بز کرمانی بود.

مواد و روش‌ها: مطالعه بر روی دو گروه ۳۰ رأسی گوسفند و بز کرمانی انجام شد. در این بررسی هر گروه به ۳ زیرگروه ۱۰ رأسی شامل زیرگروه اول شاهد (عدم تزریق واکسن)، زیرگروه دوم با یک دوز واکسن در روز اول آزمایش و زیرگروه سوم با تزریق واکسن یاد آور در روز ۱۴ آزمایش تقسیم‌بندی گردیدند. خون‌گیری از دام‌ها در روزهای ۷۵، ۶۰، ۴۵، ۳۰، ۱۵، ۱ انجام و تیتراژ آنتی‌بادی آن‌ها با تست الایزا مشخص گردید.

یافته‌ها: تیتراژ آنتی‌بادی در زیرگروه شاهد در این مطالعه صفر بود. متوسط تیتراژ آنتی‌بادی در گوسفندهای زیرگروه ۲ با یک نوبت تزریق واکسن ۰/۴۲۸، در بزها ۰/۰۹۷، در گوسفندهای زیرگروه ۳ با دو نوبت واکسن ۰/۷۷۲ و در بزها ۰/۴۰۸ بود، هم‌چنین دوام ایمنیت در گوسفند طولانی‌تر از بز است.

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش نشان‌داد تفاوت معنا داری از نظر تیتراژ آنتی‌بادی و دوام ایمنیت بین زیرگروه ۲ با دریافت یک دوز واکسن با زیرگروه ۳ با دریافت دو دوز واکسن وجود دارد. پادتن در بزها زودتر صفر می‌شد.

واژگان کلیدی: آنترتوکسمی، *کلوستریدیوم پرفرنژنس*، واکسن، آنتی‌بادی، گوسفند و بز، Iau Science.

مقدمه

یکی از مشکلات اصلی پرورش گوسفند و بز حساسیت زیاد این دام‌ها به بیماری آنترتوکسمی است. این بیماری یکی از کشنده‌ترین بیماری‌های دام است. بیماری با نام‌های پرخوری، قله‌نرمی، آنتریت هموراژیک و اسهال عفونی بره‌ها نیز شناخته می‌شود (۹). دلیل بروز بیماری جذب مقادیر زیادی توکسین از دیواره روده است. عامل بیماری باکتری

نویسنده مسئول:

دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر بابک، ایران

پست الکترونیکی: Dr.asadi44@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۰۱

کلوستریدیوم پرفرنژنس (*Clostridium perfringens*) است که اولین بار در سال ۱۸۹۲ توسط دو دانشمند به نام‌های ولش و Welch و نوتال Notal در لاشه پوسیده و گازوز دام‌ها شناسایی گردید (۱۶). این باکتری، گرم مثبت، هاگ‌دار، بی‌هوازی، پلی‌مورف، توکسین‌زا و دارای ۵ تیپ A، B، C، D و E است که تیپ‌های D و C آن بیماری‌زایی بیش‌تری دارند. باکتری در خاک وجود داشته و جزء فلور طبیعی دستگاه گوارش است، در صورت وجود شرایط مناسب و مساعد از جمله تغییر ناگهانی جیره، وجود انگل‌های داخلی، پرخوری با مواد کربوهیدراته، خوردن علوفه یخ زده و آب سرد باکتری به‌سرعت تکثیر پیدا نموده و مقادیر زیادی توکسین تولید می‌نماید. باکتری ۱۲ توکسین دارد که توکسین‌های اصلی آن عبارتند از آلفا، بتا، یوتا و اپسیلون، که توکسین اپسیلون نقش

گروه ۳: به فاصله ۱۴ روز از تزریق اول دوز دوم واکسن را دریافت کردند. در این پژوهش واکسن تزریقی، آنتروتوکسمی پلی والان تولید شده مؤسسه واکسن و سرم سازی رازی کرج که هر سی سی واکسن حاوی ۵ واحد بین المللی (IU) آنتی-ژن اپسیلون و ۱۰ واحد بتا و ۳/۵ واحد آلفا بود. میزان دوز مصرفی ۲/۵ تا ۳ سی سی (بسته به جثه دام) و در هر دو نوبت تزریق از یک شماره بچ استفاده گردید. خون گیری از این دام-ها در روزهای ۱، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ و ۷۵ مطالعه انجام شد. سرم این خون‌ها توسط سانتریفوژ جدا و با استفاده از سمپلر به شیشه‌های کوچک استریل درب پوش‌دار انتقال داده می‌شد و شماره شناسایی دام روی نمونه سرمی یادداشت گردید. سپس نمونه‌های سرمی بسته بندی و مشخصات و نوبت خونگیری آن‌ها یادداشت گردید. نمونه‌ها ابتدا به دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل و سپس تا زمان انجام آزمایش الیزادر آزمایشگاه مؤسسه رازی در دمای منفی ۷۰ درجه نگهداری شد.

روش و مراحل انجام تست الیزا

برای انجام تست الیزا از کیت الیزای غیر مستقیم استفاده گردید. ابتدا بافر رقت سازی را آماده و سرم‌های مورد آزمایش و نیز سرم کنترل مثبت و کنترل منفی را با بافر به نسبت یک صدم رقیق نموده، بدین ترتیب که برای هر کدام از نمونه‌های سرم موجود ابتدا یک سی سی بافر داخل ظروف پلاستیکی کوچک درب‌دار ریخته و سپس ۱۰ میکرولیتر از نمونه سرم را به آن افزوده، درب آن را بسته و خوب تکان داده شد.

در هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از سرم‌های رقیق شده اضافه و به عنوان کنترل منفی فقط ۱۰۰ میکرو لیتر از بافر به چاهک مورد نظر اضافه می‌شود. سپس، آن را در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده و پس از اتمام این زمان پلیت را خارج کرده و سه تا چهار بار با بافر (PBST) شستشو داده شده و پس از آخرین مرحله شستشو، پلیت به طور کامل خشک می‌شود. سپس کونژوگه و بافر رقت را به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده (بر اساس نسبت رقت $\frac{1}{5000}$) و در چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از کونژوگه رقیق شده ریخته می‌شود. پلیت به مدت یک ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و پس از سپری شدن این زمان، پلیت خارج و آن را طبق روش‌های قبلی سه تا چهار بار با بافر شستشو داده و بعد به طور کامل خشک می‌شود. به هر یک از حفرات پلیت، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول سوبسترا افزوده

بیش‌تری در بروز بیماری دارد (۵). تیپ‌های مختلف این باکتری هر کدام در بروز یک بیماری نقش دارند، برای مثال تیپ B کلستریدیوم پرفرنزنس در بروز اسهال عفونی بره‌های نوزاد، تیپ D در بروز بیماری قلوه نرمی، تیپ C در بروز آنتروتوکسمی و کلستریدیوم سیتیکم در بروز بیماری براکسی نقش دارند (۸). گردش توکسین باعث انباشتگی و پرخونی شکمبه و شیردان، التهاب ریه، پرخونی و تغییرات دژنراتیو کلیه، فساد سریع لاشه، پرخونی روده، اسهال واسهال خونی در دام می‌شود (۱۱). دوره بیماری در بره‌های جوان ۱۲ ساعت و در دام‌های بالغ تا ۲۴ ساعت است. گوسفند و بز در هر سنی به بیماری مبتلا می‌شوند ولی بره‌های جوان، بزغاله-ها، گوساله‌ها و کره اسب‌ها به بیماری حساس‌تر هستند. بیماری در بره‌ها از یک روزگی دیده می‌شود. مناسب‌ترین راه پیشگیری از بیماری، واکسیناسیون و مدیریت جیره غذایی است (۱۴). مطالعه‌هایی توسط دانشمندانی مانند Sonaz و همکاران در سال ۲۰۱۷، Veschi در سال ۲۰۱۴، Comar و همکاران در سال ۲۰۱۴، Bak Well در نیوزیلند، Bentancer و همکاران در سال ۲۰۱۱، Batty و همکاران در سال ۲۰۱۶، Flores و همکاران در سال ۲۰۱۸ و Anjum و همکاران در سال ۲۰۱۹ (۱۱) در زمینه پاسخ‌های ایمنی بعد از تزریق واکسن آنتروتوکسمی صورت پذیرفته است. از آنجا که در حال حاضر پروتکل تزریق واکسن در گوسفند و بز در ایران یکسان بوده و در زمینه ایمنی‌زایی واکسن و دوام آن، مقایسه میزان تیترا پادتن در تزریق تک دوزی با تزریق واکسن یادآور و نیز مقایسه میزان پادتن در گوسفند و بز مطالعه کامل و جامعی در ایران و منطقه صورت نگرفته بود این مطالعه و پژوهش بر روی گوسفند و بز کرمانی انجام گرفت.

روش کار

جمع‌آوری نمونه‌ها

این پژوهش اصیل و کاربردی در اوایل سال ۱۳۹۹ شروع و حدود یک سال به طول انجامید. انتخاب جامعه هدف به صورت دو گروه شامل ۳۰ رأس گوسفند و ۳۰ رأس بز کرمانی بود (با توجه به هزینه بالای طرح تعداد نمونه بیش‌تر امکان‌پذیر نبود). شرط اصلی انتخاب نمونه‌ها این بود در یک سال گذشته واکسن آنتروتوکسمی دریافت نکرده و به طور کامل سالم باشند. سپس هر کدام از این گروه‌ها به ۳ زیر گروه ۱۰ رأسی تقسیم شدند. زیر گروه ۱: این زیر گروه‌ها در طول مدت تحقیق هیچ واکسنی دریافت نکردند. زیر گروه ۲: این زیر گروه‌ها فقط یک دوز واکسن در روز اول دریافت و زیر

و پلیت ۱۵-۱۰ دقیقه در محل تاریک قرار گرفته و روی پلیت با فویل پوشانده می‌شود تا واکنش بین آنزیم و سوبسترا انجام شده و واکنش رنگی صورت گیرد.

در پایان این مرحله بسته به میزان تیتر آنتی‌بادی رنگ آبی سیر تا روشن در چاهک‌های پلیت مشاهده خواهد شد. بلافاصله پس از انجام واکنش رنگی فوق و به محض شروع رنگ‌گیری حفرات پلیت برای ثابت ماندن واکنش بافر پایانی یعنی اسید سولفوریک دو نرمال به میزان ۵۰ میکرولیتر به هر چاهک اضافه گردیده تا واکنش آنزیم متوقف شود. با اضافه کردن اسید به هریک از چاهک‌ها، رنگ‌ها از آبی به رنگ زرد تیره تا روشن بسته به میزان تیتر آنتی‌بادی تغییر خواهد یافت. پلیت درون دستگاه الیزا ریدر قرار می‌گیرد و میزان جذب نوری (OD) هر یک از چاهک‌های پلیت در طول موج ۴۹۲ نانومتر محاسبه می‌شود و نتایج به‌دست آمده پرینت گرفته می‌شود تا نمونه‌های سرمی مثبت و منفی از لحاظ آنتی‌بادی مشخص گردد (۱۷).

نتایج

نمونه‌ها شامل ۳۰ رأس گوسفند و ۳۰ رأس بز بومی همگی نژاد کرمانی (جنس ماده، سن ۳ و ۴ ساله، فاقد هرگونه

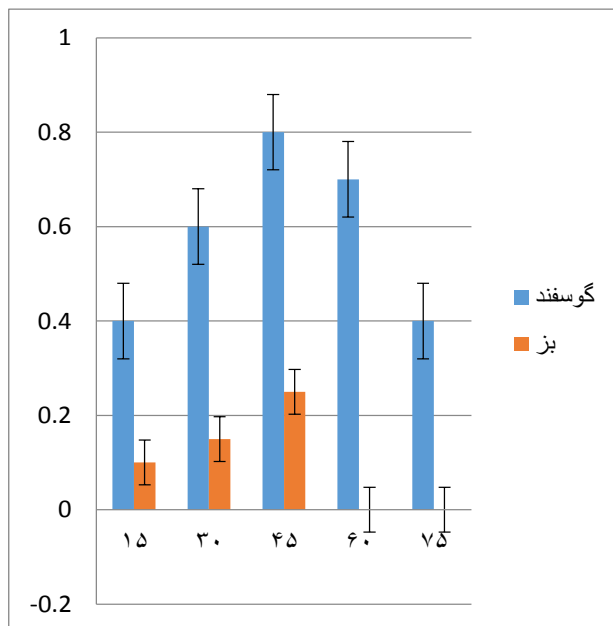
بیماری و در یک سال گذشته واکسن آنتروتوکسمی دریافت ننموده است). حجم نمونه آماری با استفاده از جدول مورگان و فرمول کوکران با درصد خطا ۵٪ (کتاب آموزش spss) تعیین گردید (۲۰). تلفاتی در طول دوره مطالعه در این دام‌ها دیده نشد. تغذیه این دام‌ها در طول دوره پژوهش یکسان بوده و تفاوت زیادی از نظر وزن با توجه به این که گوسفند داشتنی بودند در ابتدا و پایان دوره مطالعه دیده نشد. همان‌طوری که در جداول شماره ۱ و ۲ مشاهده می‌گردد، تیتر آنتی‌بادی در زیر گروه شاهد گوسفند و بز در روز اول تحقیق و در طی دوره مطالعه به‌علت عدم دریافت واکسن صفر بود. میانگین تیتر آنتی‌بادی در گوسفندهایی که یک نوبت واکسن دریافت نموده‌اند ۰/۴۲۸ و در بزها ۰/۰۹۷ و در گروه گوسفندهایی که واکسن یادآور دریافت نموده‌اند به‌طور متوسط ۰/۷۷۲ و در بزهای این گروه ۰/۴۰۸ است. در زیرگروه ۲ و ۳ در روز اول مطالعه و قبل از واکسیناسیون خون‌گیری انجام و تیتر آنتی‌بادی در تمام گروه‌ها صفر بود. بعد از واکسیناسیون مرحله اول تیتر آنتی‌بادی رو به افزایش بوده و حداکثر تیتر آنتی‌بادی در زیرگروه ۲ که یک نوبت واکسن دریافت نموده ۴۵ روز بعد از تزریق است. در زیرگروه ۳ که دو نوبت واکسن دریافت نموده‌اند ۶۰ روز بعد از تزریق اول حداکثر تیتر آنتی‌بادی مشاهده گردید.

جدول ۱. میانگین تیتر آنتی‌بادی درگوسفند کرمانی پس از واکسیناسیون با واکسن آنتروتوکسمی

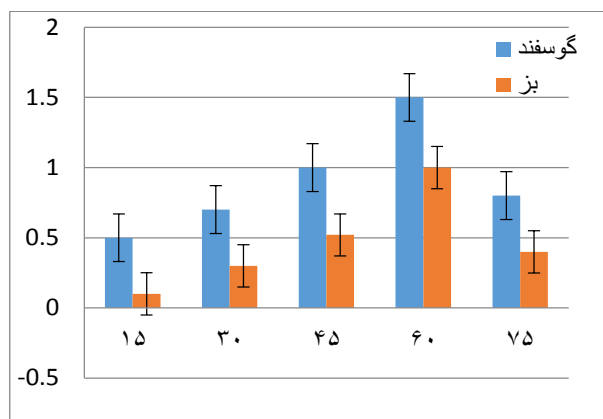
ردیف	روز بعد از واکسن	گروه اول (شاهد)	گروه دوم (تک)	گروه سوم (دو)
۱	۱	۰	۰	۰
۲	۱۵	۰	۰/۴۱۳	۰/۴۳۷
۳	۳۰	۰	۰/۶۲۱	۰/۷۱۲
۴	۴۵	۰	۰/۸۳۷	۱/۰۴۳
۵	۶۰	۰	۰/۷۰۲	۱/۵۸۴
۶	۷۵	۰	۰/۴۲۹	۰/۸۵۸

جدول ۲. میانگین تیتر آنتی‌بادی در بز کرمانی پس از واکسیناسیون با واکسن آنتروتوکسمی

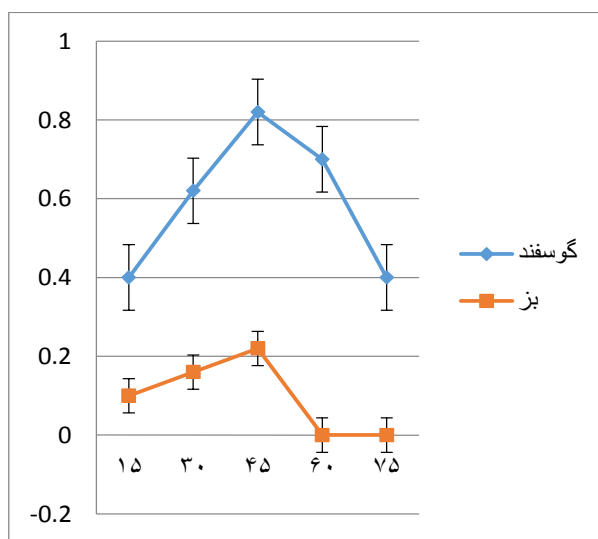
ردیف	روز بعد از واکسن	گروه اول (شاهد)	گروه دوم (تک)	گروه سوم (دو)
۱	۱	۰	۰	۰
۲	۱۵	۰	۰/۱۳۹	۰/۱۳۷
۳	۳۰	۰	۰/۱۶۰	۰/۳۰۷
۴	۴۵	۰	۰/۳۴۱	۰/۵۶۶
۵	۶۰	۰	۰/۰۴۴	۱/۰۴۳
۶	۷۵	۰	۰/۰۰۳۵	۰/۳۹۸



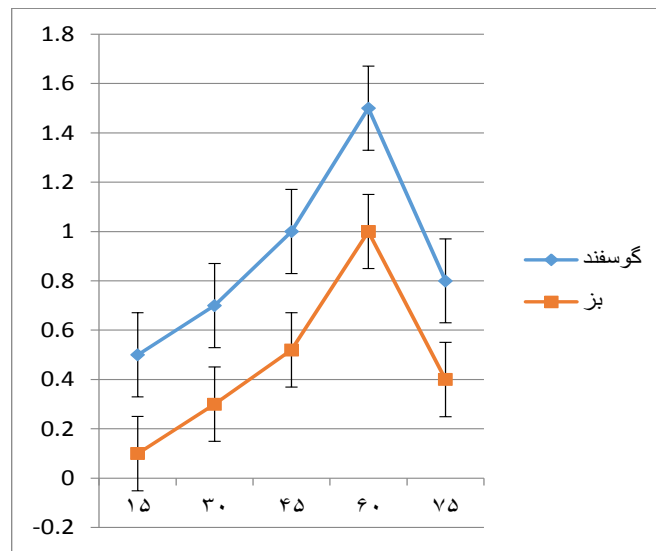
شکل ۱. مقایسه پاسخ‌های ایمنی در گوسفند و بز پس از واکسیناسیون تک دوزی «گروه II» محور عمودی تیتراژ و محور افقی روزهای پس از تزریق است.



شکل ۲. مقایسه پاسخ‌های ایمنی در گوسفند و بز پس از واکسیناسیون دو دوزی «گروه III» محور عمودی تیتراژ و محور افقی روزهای پس از تزریق است.



شکل ۳. مقایسه پاسخ‌های ایمنی در گوسفند و بز پس از واکسیناسیون تک دوزی «گروه II» محور عمودی تیتراژ و محور افقی روزهای پس از تزریق است.



شکل ۴. مقایسه پاسخ‌های ایمنی در گوسفند و بز پس از واکسیناسیون دو دوزی «گروه III»

بحث

هدف از انجام تحقیق این بود، با توجه به این که در حال حاضر پروتکل تزریق واکسن در گوسفند و بز در ایران یکسان بوده و در زمینه ایمنی‌زایی واکسن و دوام آن، مقایسه میزان تیتر پادتن در تزریق تک دوزی با تزریق واکسن یادآور و نیز مقایسه میزان پادتن در گوسفند و بز مطالعه کامل و جامعی صورت نگرفته بود. بهترین فصل واکسیناسیون مطابق پروتکل مؤسسه رازی اوایل بهار و پاییز است. واکسن مورد استفاده در این مطالعه واکسن پلی والان مؤسسه واکسن و سرم سازی کرج که هر سی‌سی آن حاوی ۵ واحد بین‌المللی آنتی‌ژن اپسیلون بود.

عامل بیماری باکتری کلاستریدیوم پرفرنژنس و دلیل بروز این بیماری جذب مقادیر زیادی توکسین این باکتری از دیواره روده است (۱۶). باکتری دارای ۵ تیپ A, B, C, D و E است که تیپ‌های C و D آن بیماری‌زایی بیشتری دارند. باکتری در خاک وجود داشته و جزء فلور طبیعی دستگاه گوارش است، در صورت وجود شرایط مناسب و مساعد از جمله تغییر ناگهانی جیره، وجود انگل‌های داخلی، پرخوری با مواد کربوهیدرات، خوردن علوفه یخ زده و آب سرد به سرعت تکثیر پیدا نموده و مقادیر زیادی توکسین تولید می‌نماید. این باکتری ۱۲ توکسین دارد که توکسین‌های اصلی آن عبارتند از آلفا، بتا، یوتا و اپسیلون، که توکسین اپسیلون نقش بیش‌تری در بروز بیماری دارد (۵). تیپ‌های مختلف این باکتری هر کدام در بروز یک بیماری نقش دارند، برای مثال تیپ B کلاستریدیوم پرفرنژنس در بروز اسهال عفونی بره‌های نوزاد،

تیپ D در بروز بیماری قلوه نرمی، تیپ C در بروز آنتروتوکسمی و کلاستریدیوم سپتیکم در بروز بیماری براکسی نقش دارند (۸). در این تحقیق ۳۰ رأس گوسفند و ۳۰ رأس بز کرمانی انتخاب شد. این ۳۰ رأس‌ها به ۳ زیرگروه ۱۰ رأسی تقسیم شده است. زیر گروه شاهد هیچ‌گونه واکسنی در مدت مطالعه در یافت نمودند. مهم‌ترین یافته‌های تحقیق این بود که: در زیرگروه شاهد تیتر آنتی‌بادی در روز اول خون‌گیری و در طول دوره مطالعه صفر بود (جداول ۱ و ۲). زیرگروه دوم گوسفند و بزهایی بودند که در روز اول مطالعه بعد از خون‌گیری به آن‌ها واکسن تزریق شد. تیتر آنتی‌بادی در این گروه قبل از واکسیناسیون صفر بوده و در روز ۴۵ مطالعه به حداکثر خود می‌رسد و بعد از آن کاهش پیدا می‌نماید (نمودار ۳). زیرگروه سوم شامل یک گروه ۱۰ رأسی گوسفند و یک گروه ۱۰ رأسی بز بوده که به فاصله ۱۴ روز از تزریق اول واکسن یادآور آنتروتوکسمی دریافت نمودند. در این گروه حداکثر تیتر ۶۰ روز بعد از تزریق اول دیده شد (نمودار ۴). در مقایسه نمودارها به این نتایج بر می‌خوریم که در ۱۵ روز اول مطالعه تفاوتی بین تیتر آنتی‌بادی گوسفند و بزهای گروه ۲ و ۳ دیده نمی‌شد اما از روز ۳۰ آزمایش این تفاوت معنادار شده و همان‌طوریکه در نمودار (۱ و ۲) مشاهده می‌شود، این تفاوت حدود ۲ برابر است. مقایسه بین گوسفند و بز تفاوت معناداری بین تیتر آنتی‌بادی آن‌ها را نشان می‌دهد (جداول ۱ و ۲). تیتر پادتن که بیان‌گر دوام ایمنی‌زایی در زیر گروه ۲ به‌خصوص در بزها در روز ۷۵ مطالعه کاهش چشم‌گیری داشته، در حالی‌که در زیر گروه ۳ تیتر بالا است. با مقایسه جداول و نمودارها تفاوت معناداری بین میزان ایمنی‌زایی بین

پیشنهادات

در زمینه محدودیت‌های تحقیق باید به مواردی مانند هزینه بالای طرح و در نتیجه محدود بودن حجم نمونه، کمبود مطالعه‌های پژوهشی در ارتباط با موضوع مقاله، دشواری ارسال نمونه به مؤسسه رازی کرج، توجه به یک نژاد و منطقه خاص، خصوصی تلقی کردن اطلاعات توسط بعضی دستگاه‌ها، کنترل متغیرها و عوامل تأثیرگذار بر موضوع پژوهش، تهیه دام مورد نظر و انتخاب نمونه‌ها اشاره نمود. پیشنهاد می‌گردد برای این‌که نتایج دقیق‌تر و قابل تعمیم دادن شوند، حجم نمونه زیادتر گردد و تأثیر عوامل دیگر مانند نژاد، تغذیه، جنس، منطقه جغرافیایی و آب و هوا بر موضوع بررسی شود. تیتراژ آنتی‌بادی آنتروتوکسمی حداقل هر ۳ تا ۴ ماه یک بار در گله مشخص شود تا قبل از صفر شدن تیتراژ آنتی‌بادی و تلفات در گله واکسیناسیون صورت گیرد. با توجه به تفاوت معنادار تیتراژ آنتی‌بادی در گوسفند و بزهایی که واکسن یادآور دریافت نموده بودند، به دامداران تزریق واکسن یادآور توصیه شود. فواصل واکسیناسیون در بزها به کم‌تر از ۶ ماه کاهش یابد. به دلیل کم‌تر بودن میزان تیتراژ واکسن در بز نسبت به گوسفند مقدار تزریقی (دوز) واکسن بیش‌تر در بز نیز پیشنهاد می‌گردد.

گوسفند و بز مشاهده گردید. تیتراژ آنتی‌بادی در بز کم‌تر از گوسفند بود و زودتر از گوسفند به صفر نزدیک شده است (جدول ۱ و ۲). از نظر نگارنده مقاله علت تفاوت تیتراژ آنتی‌بادی در گوسفند و بز مکانیسم پاتوفیزیولوژیکی گوسفند نسبت به بز است و مبنای ایمنولوژیکی وجود ندارد. در گوسفند بیماری به شکل فوق حاد و حاد بروز نموده و ضایعات به شکل عصبی و تنفسی دیده شده ولی در بز بشکل تحت حاد و مزمن بوده و ضایعات محدود به روده است و پادتن در اثر حرکات طبیعی روده غیر فعال می‌شود.

نتیجه‌گیری

متأسفانه در ایران مطالعه جامعی در زمینه مقایسه پاسخ‌های ایمنی و دوام آن و میزان پادتن انجام نشده تا نتایج حاصل از مطالعه با آن‌ها مقایسه شود، در صورتی که در کشورهای دیگر در این زمینه مطالعه‌های زیادی صورت گرفته است. Sonaz و همکاران در پاکستان در سال ۲۰۱۷ مطالعه‌ای در زمینه تأثیر واکسن آنتروتوکسمی روی گوسفند و بز انجام داده و نتایج این مطالعه مؤید نتایج تحقیقات و آزمایش‌هایی که در این مورد صورت گرفته است (۱۹). Veschi در سال ۲۰۱۴ مطالعه‌ای انجام داده و نتیجه گرفت که ایمنی‌زایی واکسن آنتروتوکسمی در بز ضعیف‌تر از گوسفند است (۲۱). Comar و همکاران در سال ۲۰۱۴ ثابت نمودند که واکسن یادآور باعث طولانی شدن دوام ایمنیت می‌شود (۷). Bak Well در نیوزیلند طی مطالعه‌ای اعلام نمود که تیتراژ آنتی‌بادی در گوسفند و بز یکسان است که این مسئله با هیچ‌یک از مطالعه‌های اخیر در دنیا مطابقت ندارد (۴). Bentancer و همکاران در سال ۲۰۱۱ طی مطالعه‌ای در مورد تفاوت واکسن تک دوزی و دو دوزی اعلام نمودند که گوسفندهایی که واکسن یادآور دریافت نمودند تیتراژ آنتی‌بادی بالاتری دارند (۳). Butter در پژوهشی ثابت نمود گوسفند و بزهایی که واکسن یادآور به آن‌ها تزریق شده، میزان ایمنی‌زایی بیش‌تری نسبت به دام‌هایی که واکسن یک دوزی دریافت نموده‌اند دارند (۶). Batty و همکاران در مطالعه‌ای اعلام نمودند که در تزریق واکسن باید جثه دام در نظر گرفته شود که این مسئله در پروتکل مؤسسه رازی رعایت گردید و میزان تزریق واکسن بر اساس جثه دام و به میزان ۲ تا ۳ سی‌سی است (۲). Flores و همکاران در سال ۲۰۱۸ اعلام نمودند که میزان آنتی‌بادی در بز نسبت به گوسفند کم‌تر است (۱۰). Anjum و همکاران در سال ۲۰۱۹ در مطالعه‌ای اعلام نمودند که ایمنی‌زایی و میزان پادتن در گوسفند بیش‌تر از بز بوده که هر دو مسئله در این پژوهش اثبات گردید (۱).

1. Anjum DT, Maryse G, Abdelkader G, Marcelle B, Alain V, Michel R. Popoff. *Clostridium perfringens* epsilon toxin rapidly decreases membrane barrier permeability of polarized MDCK cells. Cellular Microbiology. 2019; 5 (3), 155–164.
2. Batty CE, Hamman M, Harris H, de Bruin R. In vitro evaluation methods for *Clostridium botulinum* type C and D vaccines. FEMS Immunol Med Microbiol. 2016; 24(3):369-72.
3. Bentancer E, Schulze F. Nachweis von *Clostridium perfringens* Toxinen auf Zellkulturen- Berliner Münchner Tierärztliche Wochenschrift. 2011; 108(8):466-470.
4. Black well TED, Lobato ZIP, Assis RA, Lima CGRD, Silva ROS, Pires PSP, Lobato FCF. In vitro evaluation of the alpha toxoid from *Clostridium septicum*. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2017; 62(4):778-783, 2010.
5. Borrmann E, Schulze F, Cussler K, Hänel I, Diller R. Development of a cell culture assay for the quantitative determination of vaccination-induced antibodies in rabbit sera against *Clostridium perfringens* epsilon toxin and *Clostridium novyi* alpha toxin. Veterinary microbiology. 2016; 114(1): 41-50.
6. Butler Schulze F. Use of cell culture assays for potency testing of *C. perfringens* immunobiologicals as an alternative to mouse toxin neutralisation test. Pharmeuropa Special Issue, BIO. 2015; 97-1(14): 30-39.
7. Comar IF, Kelly W, Morris W, Bermudez J, Baison M. The pathology of peracute experimental *Clostridium perfringens* type D enterotoxemia in sheep. Journal of veterinary diagnostic Nves. 2014;(16):7-6.
8. Cygan Z. Immunogenicity of an autovaccine. Closept. vac. prepared against braxy. Med-Vet. 2015; 46(1-3):6-8.
9. Ellis CE, Hamman M, Harris H, de Bruin R. In vitro evaluation methods for *Clostridium botulinum* type C and D vaccines. FEMS Immunol Med Microbiol. 2013; 24(3):369-72.
10. Flores GN, Gray, AK. The relation between the rabbit potency test and the response of sheep to sheep *clostridial* vaccines. Research in Veterinary Science 2018;38(1):70-75.
11. McDonel JL. Toxins of *Clostridium perfringens* types A, B, C, D and E. Pharmacology of adalla MS bacterial toxins Per amonPress Oxford UnitedKin dom. 2012; 477-517
12. Hamaoka T, Mori Y, Terakado N. Enzyme linked immunosorbent assay for evaluation of immunity in mice vaccinated with Blackleg vaccine. Japanese Journal of Veterinary Science. 2016; 52(1): 167.
13. McDonel JL. *Clostridium perfringens* toxins (type A, B, C, D, E). Pharmacology Therapeu. 2017; 150-170
14. McDonel JL. Toxins of *Clostridium perfringens* types A, B, C, D and E. Pharmacology of bacterial toxins Per amonPress Oxford UnitedKin dom. 2012;477-517
15. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology, with STUDENT CONSULT Online Access, 7. Medical Microbiology. Elsevier Health Sciences. 2013.
16. Notal RF, Welsh MJ, Stokes JB: Variability of functional characteristics of MDCK cells. Am J Physiol. 2010; 250 (2 Pt 1): C214-221.

17. Payne DW, Williamson ED, Havard H, Modi N, Brown J. Evaluation of a new cytotoxicity assay for *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin. FEMS microbiology letters. 2017; 116(2): 7-161.
18. Petit L, Gibert M, Gillet D, Laurent-Winter C, Boquet P, Popoff MR. *Clostridium perfringens*. epsilon-toxin acts on MDCK cells by forming a large membrane complex. Journal of bacteriology. 2013; 179 (20): 6480.
19. Sonaz LD, Holdeman LV. The pathogenic anaerobic bacteria. The pathogenic anaerobic Bacteria. 2017; 24. 45.
20. Sadati R, habibi A, Chapter 4, SPSS Training Book, 3rd Edition, Pars Modir Electronic Publishing, Fall 2014.
21. Vschi RE, Arévalo J, Pauillac S, Díaz-Hidalgo L, Martín-Satué M, Popoff MR, Blasi J. Correlation-21 between in vitro cytotoxicity and in vivo lethal activity in mice of epsilon toxin mutants from *Clostridium perfringens*. PLoS One. 2014; Jul 11. 9(7):e102417

