"Research article" DOI: 10.30495/JVCP.2023.1946909.1345

Evaluation of clinical efficacy of homologous Lumpy Skin Disease vaccine against challenge with Iran's circulating virus

Javadi, A.[1], Lotfollahzadeh, S.[2*], Abdollahpour, G.R.[3], Ghalyanchilangeroudi, A.[4], Sadeghian Chaleshtori, S.[5]

1- Resident of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
2- Associate Professor, Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
3- Professor, Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
4- Associate Professor, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
5- Assistant Professor, Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
*Corresponding author's email: Samadlzadeh@ut.ac.ir
(Received: 2022/12/25 Accepted: 2023/6/5)

Abstract

Lumpy skin disease is a viral disease of cattle and buffaloes which causes skin nodules in susceptible animals. Implementation of mass vaccination is the most effective way for LSD control in endemic countries. LSD vaccine that was used in the current study is a domestically produced vaccine containing live attenuated Neethling strain. In this clinical trial, 11 male calves aged 6 to 9 months with an approximate weight of 150 to 250 kg and without antibodies against LSDV were used. The calves were divided into three groups: the first group consisted of two animals that were injected with ten times the vaccine dose, the second group comprised of four calves that were injected with one dose of vaccine and the third group consisted of five calves that received the vaccine diluent and assigned as control. On the 21st day after vaccination, the calves were challenged with a pathogenic strain of LSD virus through simultaneous intravenous and intradermal inoculation. All 11 calves were examined clinically daily for 14 days after the challenge and all clinical signs were recorded. None of the vaccinated animals (ten times the dose and one dose) showed any clinical signs of LSD including cutaneous nodules and fever within 14 days after challenge, while all the animals in the control group (non-vaccinated) showed clinical signs of LSD including cutaneous nodules. Therefore, the vaccine used in the present study was effective in protecting against wild LSD virus.

Conflict of interest*:* None declared.
Keywords: Challenge, Clinical evaluation, Lumpy skin disease, Vaccine.

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2023.1946909.1345

ارزیابی بالینی کارآیی واکسن همولوگ بیماری لمپی‌اسکین در برابر چالش با ویروس در گردش ایران

امیر جوادی[۱]، صمد لطف‌اله‌زاده[۲*]، غلامرضا عبداله‌پور[۳]، آرش قلیانچی‌لنگرودی[۴]، سیروس صادقیان‌چالشتری[۵]

۱- دستیار تخصصی گروه بیماری‌های داخلی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲- دانشیار گروه بیماری‌های داخلی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۳- استاد گروه بیماری‌های داخلی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۴- دانشیار گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۵- استادیار گروه بیماری‌های داخلی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: Samadlzadeh@ut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۰/۴ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۳/۱۵)

چکیده

بیماری لمپی‌اسکین یک بیماری ویروسی در گاو و گاومیش است و عامل برآمدگی پوستی می‌باشد. مهمترین اهرم مبارزه با بیماری ویروسی لمپی‌اسکین در کشورهای اندمیک اجرای عملیات واکسیناسیون عمومی می‌باشد. واکسن مورد استفاده در مطالعه حاضر واکسنی تولید داخل و حاوی ویروس زنده تخفیف حدت‌یافته سویه نیتلینگ بود. در این کارآزمایی بالینی ۱۱ رأس گوساله نر با سن شش تا نه ماه، با وزن تقریبی ۱۵۰ تا ۲۵۰ کیلوگرم و فاقد آنتی‌بادی علیه لمپی‌اسکین مورد استفاده قرار گرفت. دام‌ها به سه گروه تقسیم شدند: گروه اول ده برابر دز واکسن را دریافت نمودند، گروه دوم یک دز از واکسن را در دریافت کردند و گروه سوم که حلال واکسن را دریافت نمودند. در روز ۲۱ پس از واکسیناسیون، گوساله‌های مورد مطالعه با یک سویه پاتوژن ویروس لمپی‌اسکین از طریق تلقیح همزمان داخل وریدی و داخل پوستی به چالش کشیده شدند. کلیه دام‌ها در طی ۱۴ روز پس از چالش به‌طور روزانه مورد معاینه بالینی قرار گرفته و کلیه علائم بالینی در آن‌ها مورد ثبت قرار گرفت. در طی ۱۴ روز بررسی دام‌های مورد چالش، در هیچ یک از دام‌های واکسینه (اعم از ده برابر دز و یک دز واکسن) پس از چالش با ویروس پاتوژن علائم بالینی لمپی‌اسکین از جمله ندول جلدی و تب مشاهده نشد در حالی که تمام دام‌های گروه شاهد (غیر واکسینه) درجاتی از علائم بالینی بیماری شامل ندول جلدی را نشان دادند. بنابراین این واکسن کارایی لازم بر محافظت در برابر سویه وحشی لمپی‌اسکین را داشت.

کلیدواژه‌ها: ارزیابی بالینی، چالش، لمپی‌اسکین، واکسن.

مقدمه

بیماری لمپی‌اسکین یک بیماری سیستمیک حاد یا تحت حاد اخطارکردنی منتقله توسط حشرات در گاو و گاومیش در آسیا می‌باشد. عامل ایجاد آن ویروسی به نام ویروس بیماری لمپی‌اسکین است که متعلق به خانواده آبله (Poxviridae) و جنس آبله بزی (Capripox virus) می‌باشد. این جنس شامل ویروس‌های آبله گوسفندی (Sheeppox)، آبله بزی (Goatpox) و ویروس بیماری لمپی‌اسکین می‌باشد. عامل ویروسی بیماری لمپی‌اسکین از لحاظ آنتی‌ژنیک مشابهت زیادی با ویروس‌های آبله گوسفندی و آبله بزی دارد و لذا برای تفریق آن‌ها از یکدیگر، از روش‌های مولکولی استفاده می‌شود. درگیری با ویروس بیماری لمپی‌اسکین در گونه‌های حساس منجر به ایجاد علائم ملایم تا شدید می‌شود که از جمله علائم قابل مشاهده می‌توان به تب، ندول‌های جلدی به تعداد متغیر، ندول در مخاطات و ارگان‌های داخلی، کاهش تولید شیر، تورم عقده‌های لنفاوی، ترشحات چشمی و بینی و ایجاد عفونت‌های ثانویه تنفسی اشاره کرد (OIE Terrestrial Manual, 2021). با اینکه میزان واگیری بیماری بسیار متغیر و از ۵ تا ۴۵ درصد می‌باشد ولی نرخ مرگ و میر بیماری در مجموع پایین و زیر ۵ درصد است. البته موارد استثنائی نیز گزارش شده‌است، مثلا در عمان میزان تلفات به ۱۵ درصد رسیده و حتی در مواردی، میزان تلفات تا ۴۰ درصد نیز گزارش شده‌است (Tageldin *et al.*, 2014). میزان واگیری بیماری به ایمن بودن دام و وجود ناقلین بیماری مرتبط می‌باشد. با این وجود خسارت‌های اقتصادی بیماری بعلت کاهش تولید شیر، محدودیت در تجارت دام، کاهش کیفیت پوست دام، سقط و کاهش باروری قابل توجه است (Tuppurainen and Oura, 2012). بیماری لمپی‌اسکین از منظر علائم جلدی مشابهت نزدیکی به ماملیت هرپس ویروسی نوع دو گاوی دارد، هرچند که بیماری‌های عفونی جلدی دیگر، از جمله درماتوفیتوزیس و درماتوفیلوزیس نیز در تشخیص تفریقی باید مدنظر قرار گیرد (Sadeghian Chaleshtori *et al.*, 2018). این بیماری جزء بیماری‌های اخطار کردنی در کشور ایران می‌باشد به‌طوری‌که ورود عامل ویروسی آن به کشور از طریق مرزی‌های غربی در سال ۲۰۱۴، منجر به بروز بیماری شد و در ابتدا به‌عنوان یک بیماری نوپدید در کشور طبقه‌بندی گردید، در حالی‌که در حال حاضر به‌عنوان یک بیماری اندمیک و بومی در کشور ایران طبقه‌بندی می‌شود (Nadalian *et al.*, 2017; Hedayati *et al.*, 2021).

کنترل و پیشگیری لمپی‌اسکین بطور عمده در کشورهایی که بیماری وارد آن‌ها شده، توسط واکسیناسیون انجام می‌پذیرد و استفاده از روش‌های دیگر از جمله حذف و کشتار بدون استفاده از واکسن، عموماً موثر واقع نبوده‌است. البته اینگونه اقدامات (حذف و کشتار دام‌های درگیر) در مواقعی که واحدهای درگیر در ابتدای شیوع بیماری تشخیص داده‌شوند، موثر می‌باشد. با این حال روش‌های حذف و کشتار جهت ریشه‌کنی بیماری مذکور، مخصوصاً در کشورهای با محدودیت منابع مالی امکان پذیر و منطقی نبوده و باعث اتلاف سرمایه دامی و منابع پروتئینی می‌گردد. بنابراین موثرترین روش برای کنترل و گام برداشتن برای ریشه کنی این بیماری واکسیناسیون می‌باشد (Tuppurainen *et al.*, 2014; Hamdi *et al.*,

2020; Haegeman *et al*., 2021). ایمن کردن دام‌ها علیه ویروس لمپی‌اسکین با استفاده از واکسن‌های زنده تخفیف حدت‌یافته جنس آبله بزی شامل ویروس هترولوگ (آبله گوسفندی و آبله بزی) و ویروس همولوگ یا نیتلینگ (Neethling) انجام می‌شود. از جمله استرین‌های هترولوگ استفاده شده در کشورهایی که واکسیناسیون در آن‌ها انجام شده‌است، شامل آبله گوسفندی RM-65، آبله گوسفندی رومانی، آبله گوسفندی باکیرکوی ترکیه و آبله بزی سویه گرگان می‌باشد. واکسن همولوگ لمپی‌اسکین از یک سویه واحد به نام نیتلینگ با منشأ کشورهای افریقایی تولید شده‌است. در سال ۲۰۱۴ مشخص گردید که سویه آبله گوسفندی و بزی کنیایی O-240 نیز در واقع یک ویروس نیتلینگ می‌باشد (Tuppurainen *et al*., 2014; Empress360, 2017). حداقل دز توصیه‌شده توسط سازمان بهداشت جهانی دام برای استرین واکسن نیتلینگ برابر با (Tissue Culture Infective Fifty Dose)، معادل $log10^{3.5}$ $TCID_{50}$ می‌باشد. البته حداقل دز محافظت کننده در برابر بیماری، $log10^{2}$ $TCID_{50}$ ذکر شده‌است (OIE Terrestrial Manual, 2021).

یک واکسن مناسب باید توانایی ایمنی‌زایی و بی‌خطری را داشته باشد. برای بررسی توانایی ایمنی‌زایی واکسن، دو روش بررسی اثربخشی در شرایط فیلد و بررسی اثربخشی در شرایط کنترل شده وجود دارد. در روش اول بروز بیماری در مناطق واکسینه‌شده و واکسینه‌نشده، مقایسه می‌شود، در حالی‌که در روش دوم این مقایسه در جمعیت محدود و در شرایط کنترل شده انجام می‌شود (OIE Terrestrial Manual, 2021).

هدف مطالعه حاضر بررسی توانایی ایمنی‌زایی واکسن همولوگ تخفیف حدت یافته لمپی‌اسکین تولیدشده توسط یک شرکت دانش بنیان داخلی در شرایط کنترل شده در جمعیت محدود از طریق چالش دام‌های واکسینه‌شده با ویروس بیماریزای فیلد بود.

مواد و روش‌ها

- روند انجام مطالعه و حیوانات استفاده‌شده: در مطالعه حاضر که از نوع کارآزمایی بالینی است و در بازه زمانی آبان ماه تا دی ماه سال ۱۴۰۰ انجام شد، از تعداد ۱۱ رأس گوساله نر خالص یا دورگ هلشتاین ۶ تا ۹ ماهه، با وزن تقریبی ۱۵۰ تا ۲۵۰ کیلوگرم و فاقد آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری لمپی‌اسکین استفاده شد. واحد اپیدمیولوژیکی که دام‌ها از آنها انتخاب شدند، فاقد سابقه بیماری لمپی‌اسکین در ۲ سال گذشته بود و سابقه‌ای از واکسیناسیون با واکسن همولوگ و یا هترولوگ را نیز نداشت. در این راستا ابتدا واحد اپیدمیولوژیک با مشخصات گفته‌شده بر اساس تاریخچه واکسیناسیون و بروز بیماری انتخاب شد و سپس از کلیه دام‌های واحد مورد نظر نمونه خون وریدی وداج اخذ شد. سپس نمونه‌های اخذشده در آزمایشگاه جهت بررسی حضور آنتی‌بادی نوترالیزان علیه ویروس لمپی‌اسکین به روش الایزا (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) و آزمایش خنثی‌سازی سرم (Serum neutralization test) ارزیابی شد (OIE Terrestrial Manual, 2021).

پس از تأیید منفی بودن دام‌ها از نظر حضور آنتی‌بادی علیه ویروس لمپی‌اسکین، سلامت کل دام‌های انتخاب شده برای کارآزمایی بالینی با انجام معاینات

بـالینی تاییـد و سـپس بـه محـل انجـام مطالعـه حمـل گردیدند. از زمان ورود دام‌ها به قرنطینه قبـل از شـروع آزمایش تا پایان دوره مطالعه، تمام دام‌های مورد مطالعـه از جیره مشابه حاوی علوفه و کنسانتره تغذیـه شـدند و دسترسی آزاد بـه آب داشـتند. محـل انجـام کارآزمـایی بالینی، فارم تحقیقاتی ایزولـه در منطقـه نظرآبـاد اسـتان البرز بود. این واحد اصول سـاختاری و امنیـت زیسـتی لازم جهت انجام چالش یک بیماری بـومی در کشـور را دارا بود که از آن جمله مـی‌تـوان بـه اسـتفاده از تهویـه هوای منفی و فیلترهای (High efficiency particulate air) HEPA، تعبیه محلی بسته برای دپوی کود در طول مطالعه و استفاده از حوضچه‌های ضدعفونی اشاره کـرد. همچنین پنجره‌های داخل واحـد دارای تـوری بـود و از چسب‌های حشره‌کش نیز استفاده شد.

لازم به ذکر است، با توجه به این‌که قبـل از شـروع مطالعه تمامی واحدهای دامـی در شـعاع ۱۰ کیلـومتری محل آزمایش مورد بررسی از نظر سـابقه واکسیناسـیون موثر، بایستی حداقل یک ماه تا حداکثر شش ماه قبـل از شـروع مطالعـه واکسـینه شـده بودنـد، لـذا بـر اسـاس اطلاعات درخواست شده از دفتـر بهداشـت و مـدیریت بیماری‌هـای سـازمان دامپزشـکی مشـخص گردیـد کـه واحـدهای مـورد بررسـی دارای سـابقه واکسیناسـیون مناسب بوده‌اند. همچنین جهت تطابق با شرایط محیطـی و کاهش اثرات ناشی از استرس جـابـه‌جـایی، دام‌هـای مورد مطالعه به مدت سه هفته قبل از شـروع کارآزمـایی بالینی در محل فارم نگه‌داری شدند و در طول این مدت معاینه بالینی از دام‌ها انجام شد. دام‌هـا سـه روز پـس از رسیدن به فارم داروهای ضـد انگـل داخلـی و خـارجی (شربت تریکلابندازول و لوامیزول ۸/۷۵درصـد، رویـان دارو، ایران و محلول تزریقی آیور وان ۱درصـد، رویـان دارو، ایران) بر اساس توصیه بروشور، داروها را دریافت کردند و درمان پیشگیری انگلی دو هفته بعد تکرار شد.

-گروه‌بندی دام‌های استفاده‌شده: تعداد ۱۱ رأس گوسـاله انتخاب شده، در ۲ اتاق مجزا به شکل زیر تقسیم شدند: اتاق یک: شامل ۳ رأس گوساله کـه بـه ۲ رأس گوسـاله واکسن به میزان ۱۰ برابـر دز تزریـق شـد و یـک رأس گوساله هم به‌عنوان شاهد در نظر گرفتـه‌شـده و حـلال واکسن (ویرانورلین، ویرواکسـن شـایا، ایـران) دریافـت کرد.

اتـاق دو: شـامل ۸ رأس گوسـاله کـه بـه ۴ رأس واکسـن بـه میـزان یـک دز تزریـق گردیـد و ۴ رأس از گوساله‌ها هم نیز به‌عنوان شاهد در نظـر گرفتـه شـده و فقط حلال واکسن (ویرانورلین، ویرواکسن شایا، ایـران) به آن‌ها تزریق گردید.

در واقع در طول مطالعه، ۱۱ رأس دام قرارگرفته در دو اتاق، در مجموع به سه گروه تقسـیم مـی‌شـدند کـه شامل: گروه ۱ که تـک دز واکسـن را دریافـت کردنـد، گروه ۲ که ۱۰ برابر دز واکسن را دریافت کردند و گروه ۳ به‌عنـوان شـاهد کـه تنهـا حـلال را دریافـت کردنـد. همچنـین در هـر اتـاق، دام‌هـای گـروه شـاهد در کنـار دام‌های واکسینه قرار داشتند (جدول ۱).

جدول ۱ – مشخصات دام‌های هریک از گروه‌های تحقیق که در اتاق‌های مطالعه قرارگرفته‌بودند

اتاق یک	اتاق دو
۲ رأس دام دریافت کننده ۱۰ دز واکسن (گروه دو)	۴ رأس دام دریافت کننده تک دز واکسن (گروه یک)
۱ رأس دام دریافت کننده حلال (گروه سه)	۴ رأس دام دریافت کننده حلال (گروه سه)

لازم به ذکر است که در طول مطالعه، علائم حیاتی دام‌های مورد مطالعه به‌طور روزانه اخذ و در برگه‌های مخصوص ثبت می‌گردید. سپس در مرحله بعد جهت بررسی قدرت اثر و کارائی واکسن، ۲۱ روز پس از تزریق واکسن/ حلال، تمام گوساله‌های گروه‌های مورد مطالعه با ویروس پاتوژن مورد چالش قرارگرفتند.

-مشخصات واکسن مورد استفاده در مطالعه: واکسن مورد استفاده یک واکسن همولوگ حاوی ویروس زنده تخفیف‌حدت‌یافته بیماری لمپی‌اسکین سویه نیتلینگ (Neethling) بود که در شرایط خلاء و انجماد به فرم لیوفیلیزه در شرکت ویرا واکسن شایا واقع در نظرآباد، استان البرز، ایران تهیه شده بود. عیار ویروس در هر دز واکسن برابر $\geq ۱۰^{۳/۵}$ TCID50 بود. به عبارت دیگر در دام‌هایی که ۱۰ برابر دز (گروه دو) واکسن تزریق گردیده بود، TCID50 $۱۰^{۴/۵}$ از ویروس واکسن را دریافت نموده بودند و دام‌هایی که با یک دز واکسن (گروه یک) واکسینه گردیده بودند، TCID50 $۱۰^{۳/۵}$ از ویروس واکسن را دریافت کردند.

- نحوه انجام چالش دادن دام‌ها با ویروس: در روز ۲۱ پس از تزریق واکسن به گوساله‌های مورد مطالعه، چالش با ویروس وحشی و پاتوژن لمپی‌اسکین انجام گردید. بدین منظور، هر یک از دام‌های مورد مطالعه، مجموعاً مقدار ۳ میلی‌لیتر از محلول حاوی ویروس پاتوژن را به میزان ۲ میلی‌لیتر داخل وریدی و یک میلی‌لیتر داخل جلدی در ۴ ناحیه قسمت کمری (هر ناحیه با رقت برابر و به مقدار ۰/۲۵میلی‌لیتر) دریافت نمودند. محل‌های تزریق داخل جلدی ویروس هم قبل از تزریق، با عمل تراشیدن، عاری از مو شده‌بودند.

لازم به ذکر است که ویروس چالش از سویه نیتلینگ در گردش در ایران (تکثیر داده‌شده در تیره سلولی بیضه بره) بود که توسط شرکت ویرا واکسن شایا جداسازی و توسط روش PCR (polymerase chain reaction) تأییدشده بود. همچنین توانایی بیماری‌زائی و ایجاد علائم بالینی این ویروس هم در یک چالش اولیه در فارم تحقیقاتی شرکت در ۲ رأس دام قبل از شروع مطالعه اثبات شده‌بود. دز و حجم ویروس چالش مورد استفاده در مطالعه حاضر، بر اساس توصیه‌های انجام شده در مطالعات مشابه، معادل 10^5-10^6 TCID50 از ویروس فیلد در نظر گرفته شد (Ngichabe *et al.*, 1997; Gari *et al.*, 2015).

-نحوه ثبت اطلاعات علائم بالینی دام‌ها: دام‌های مورد مطالعه از ابتدای کارآزمایی، مورد معاینه بالینی شامل اخذ درجه حرارت مقعدی، ثبت تعداد ضربان قلب و تنفس، حرکات شکمبه و مشاهده روزانه از نظر بروز هرگونه علائم غیرطبیعی قرار گرفتند. علائم بالینی قابل شمارش (درجه حرارت بدنی، ضربان قلب و تنفس) به شکل ثبت عددی و علائم بالینی غیرقابل شمارش (صداهای تنفسی، قوام مدفوع، ضایعات جلدی، ....) به شکل نمره‌دهی بصورت روزانه ثبت و در برگه‌های مخصوص یادداشت می‌گردید (جدول ۲). لازم به ذکر است که روش نمره‌دهی مورد استفاده با در نظر گرفتن علائم بالینی اصلی بیماری لمپی‌اسکین انجام می‌گرفت (Carn and Kitching, 1995). در این نمره‌دهی بی‌اشتهایی دام، مشاهده علائم سیستمیک بیماری، تورم عقده‌های لنفاوی، ترشحات چشمی و بینی، ندول‌های جلدی، ادم در پیش‌سینه و اندام‌های حرکتی مورد بازدید و بررسی قرار می‌گرفت و روزانه برای هر یک از

دام‌ها نمره بالینی به مدت ۳۵ روز، از روز شروع تزریق واکسن تا ۱۴ روز پس از چالش با ویروس فیلد ثبت شد. همچنین تورم محل تزریق واکسن در دام‌های چالش داده‌شده، روزانه مورد بازدید قرارگرفته و از محل تزریق هم تصویربرداری می‌شد.

جدول ۲- علائم بالینی ثبت‌شده برای بیماری لمپی‌اسکین بر اساس سیستم نمره‌بندی

ردیف	نوع علامت مورد نظر	توصیف تشریح علائم بالینی	توصیف علائم بالینی اندازه‌گیری‌شده براساس نمره واکنش بالینی
۱	علائم عمومی	وجود یا عدم وجود علائم دپرسیون، پوشش خارجی نامناسب، عدم توانایی در حرکت، بی‌حالی	عدم وجود دپرسیون:۰، وجود دپرسیون خفیف:۱، دپرسیون شدید:۲
۲	وجود ندول در قسمت‌های مختلف پوست	وجود چندین ندول با اندازه مختلف در کل سطوح پوستی (گردن، پرینه، دستگاه تناسلی خارجی، مخاط بینی، دهان و ملتحمه)	عدم وجود ندول: ۰، وجود بیش از ۵ ندول کمتر از ۱ سانتی‌متر: ۱، وجود تعداد بیش از ۵ ندول بالای ۱ سانتی‌متر: ۲، وجود ندول‌های متعدد با اندازه بالای ۲ سانتی متر: ۳
۳	لنفادنوپاتی	تورم عقده لنفی پیش‌کتفی و پیش‌رانی	عدم تورم عقده لنفی: ۰، وجود تورم عقده لنفی (کمتر از ۲ برابر شدن اندازه نرمال): ۱، وجود تورم عقده لنفی(بیشتر از ۲ برابر شدن اندازه نرمال): ۲
۴	ترشحات بینی و چشمی	وجود و یا عدم وجود ترشحات بینی و چشمی	عدم ترشحات چشمی و بینی: ۰، وجود ترشحات بینی و چشمی: ۱، وجود زخم در ملتحمه چشم و بینی: ۲
۵	ادم	وجود ادم در ناحیه پیش سینه و اندام‌های حرکتی	عدم وجود ادم: ۰، وجود ادم در پاها: ۱، وجود ادم در پاها و پیش‌سینه: ۲
۶	تب	دمای بدن زیر ۳۹ درجه سلسیوس: بدون تب، دمای بدن بین ۳۹ تا ۴۰ درجه سلسیوس: تب خفیف، دمای بدن ۴۰ درجه سلسیوس به بالا: تب شدید	عدم وجود تب: ۰، افزایش خفیف دمای بدن: ۱، وجود تب شدید: ۲
۷	بی اشتهایی	عدم بی‌اشتهایی	وجود اشتها: ۰، بی‌اشتهائی: ۱

-**آزمایش خنثی‌سازی سرم:** جهت انجام آزمایش مذکور، ابتدا سرم‌های تهیه شده و نیز سرم‌های کنترل منفی و کنترل مثبت، در دمای ۵۶ درجه سلسیوس دکمپلمان شده و سپس به نسبت ۱ به ۵ در مدیایی حاوی نمک‌ها، ال گلوتامین، بی‌کربنات (EMEM) رقیق می‌شدند. مراحل انجام آزمایش نیز بر اساس توصیه‌های ارائه‌شده در دستنامه حیوانات خشکی‌زی سازمان جهانی بهداشت دام بود. براساس توصیه‌های مذکور، روزانه چاهک‌ها به مدت ۹ روز زیر میکروسکوپ نوری (CX23LEDRF Olympus®- S1/S2, Japan) بررسی و نتایج آن ثبت می‌شد. براساس توصیه‌های مذکور و برحسب عیار ویروس مورد استفاده، باید CPE (Cytopathic Effect) در رقت‌های پایین دیده شود که در این‌صورت، سرم مورد آزمایش فاقد آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری لمپی-اسکین می‌باشد (OIE Terrestrial Manual, 2021).

-**آزمون الایزای رقابتی**: این آزمایش سرولوژیکی با استفاده از کیت تجاری (ID Screen® Capripox Double Antigen Multi-species, ID Vet, Grabels, France) و بر اساس دستورالعمل ارائه‌شده توسط شرکت سازنده انجام شد. براساس دستورالعمل ذکرشده، کدورت نمونه‌های سرم در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت می‌گردید و در صورتی‌که حاصل تقسیم کدورت نوری نمونه سرمی نسبت به کدورت کنترل مثبت (S/P)، زیر ۳۰ درصد محاسبه می‌شد، نمونه از لحاظ آنتی‌بادی منفی و اگر نتیجه بیشتر یا مساوی ۳۰ درصد بدست می‌آمد، نمونه سرمی مورد آزمایش، از لحاظ آنتی‌بادی مثبت درنظر گرفته می‌شد (Arjomandi *et al*., 2015; OIE Terrestrial Manual, 2021).

-**تحلیل آماری داده‌ها**: نتایج بدست آمده با استفاده از نسخه ۲۴ نرم‌افزار SPSS، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. میانگین درجه حرارت رکتومی، تعداد ضربان قلب و تنفس بصورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شد و جهت مقایسه از روش‌های Repeated Measure، One Way ANOVA و آزمون آماری Tukey و با در نظرگرفتن $p<0/05$، استفاده شد. همچنین جهت مقایسه آماری سایر علائم بالینی که به شکل نمره‌دهی ثبت گردیده‌بودند، از آزمون‌های کروسکال والیس و فریتمن در سطح ($p<۰/۰۵$) استفاده شد.

یافته‌ها

-**یافته‌های بالینی پس از چالش با ویروس**: تورم و قرمزی در ناحیه چالش با ویروس، در یکی از دام‌های گروه شاهد (گروه ۳) در روز هفتم پس از چالش با ویروس بیماری لمپی‌اسکین مشاهده شد. همچنین تمام دام‌های مورد چالش در گروه شاهد، حداکثر پس از روز هشتم، در محل تزریقات جلدی و وریدی ویروس، تورم مشخصی را با اندازه‌های مختلف در محل چالش نشان دادند، درحالی‌که در دام‌های گروه‌های ۱ و ۲، ندول یا تورم در محل چالش با ویروس مشاهده نشد ($p<۰/۰۵$) (جدول ۳).

تمامی دام‌های گروه ۳ (گروه شاهد) که با ویروس چالش داده شدند، عوارض جلدی و ندول را در دیگر مناطق پوست، غیر از محل تلقیح نشان دادند ولی دام‌های گروه‌های ۱ و ۲، عوارض جلدی بیماری را پس از چالش نشان ندادند. زمان مشاهده ندول‌های جلدی هم در روز هفتم بعد از چالش شروع شد و حدود ۱۲ روز بعد، شروع به خشک شدن و جدا شدن از پوست نمود. همچنین در تمام دام‌ها اعم از واکسینه و شاهد در محل تزریق جلدی یک روز بعد از چالش یک تورم مختصری دیده شد که این تورم در دام‌های گروه‌های ۱ و ۲ برطرف شد در حالی که در گروه دام‌های شاهد این تورم افزایش پیدا کرده و از اطراف شروع به قرمز شدن نمود، به‌طوری‌که در یکی از دام‌ها، یک قرمزی با قطر ۵ سانتی‌متر در اطراف محل تزریق مشاهده شد. ندول‌های جلدی در سطح بدن ابتدا با قرمزی پوست خصوصاً در نواحی کم‌موی بدن مشاهده شد ولی به تدریج در کل بدن پراکنده شد (شکل ۱). همچنین میانه نمره ندول جلدی در گروه ۳ (شاهد) در ۵ رأس دام نسبت به ۶ رأس دام گروه‌های واکسینه‌شده (گروه‌های ۱ و ۲) در روز هفتم افزایش را نشان داد و این روند با گذشت زمان تا انتهای مطالعه ادامه داشت.

جدول ۳- میانه نمره ندول جلدی در دام‌های گروه‌های مختلف، جهت ارزیابی کارایی واکسن لمپی‌اسکین در روزهای مختلف چالش با ویروس

روز پس از چالش / گروه مورد مطالعه	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴
گروه ۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
گروه ۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
گروه ۳	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱

از طرف دیگر، ۴ رأس از ۵ رأس دام گروه ۳ (شاهد) تب را بعد از چالش با ویروس بیماری لمپی‌اسکین نشان دادند ولی شروع این تب از روز چهارم تا روز چهاردهم پس از چالش متفاوت بود. بالاترین دمای ثبت‌شده در بین دام‌ها هم، ۴۰/۴ درجه سلسیوس بود که در روز پنجم بعد از چالش مشاهده‌شد. همچنین ۲ رأس از۵ رأس دام گروه ۳ (شاهد) ترشحات چشمی و بینی را نشان دادند. دپرسیون هم در تمام دام‌های گروه۳ (شاهد) بوجود آمد، به‌طوری‌که در دامنه روزهای چهارم تا هفتم بعد از چالش، بی حالی و ظاهر بیمار در دام‌ها مشاهده گردید. شروع تورم در عقده‌های لنفاوی بین دام‌های مختلف گروه ۳ (شاهد) از ۴ تا ۹ روز بعد از چالش مشاهده شد در حالی که تورم قابل ملامسه‌ای در عقده لنفی دام‌های گروه‌های ۱ و ۲ (تک‌دز واکسن و ۱۰ دز واکسن) مشاهده نشد ($p<۰/۰۵$). در واقع تورم عقده‌های لنفاوی در ۴ رأس از ۵ رأس گوساله گروه ۳ (شاهد) در روزهای ۳ تا ۴ بعد از چالش با ویروس بروز کرد که عموماً در هر ۴ عقده لنفی سطحی پیش‌کتفی و پیش‌رانی قابل مشاهده بود، هر چند که سایز آن‌ها کمی با هم تفاوت داشت. تب در این دام‌ها نیز یک روز پس از تورم عقده‌های لنفاوی مشاهده‌شد. یکی از دام‌های گروه شاهد هم در روز نهم بعد از چالش ادم شدید در ناحیه اندام‌های حرکتی قدامی و خلفی را نشان داد که در روز یازدهم پس از چالش منجر به زمین‌گیری دام مذکور گردید (شکل ۱).

شکل ۱- مشاهده ضایعات پوستی و عوارض جانبی بیماری لمپی‌اسکین پس از چالش با ویروس فیلد در یکی از گوساله‌های گروه ۳ (گروه شاهد) که به‌دلیل ایجاد ادم شدید در ناحیه اندام‌های حرکتی قدامی و خلفی، دچار زمین‌گیری نیز شد.

همچنین نتایج اندازه‌گیری درجه حرارت رکتومی، تعداد تنفس و تعداد ضربان قلب گوساله‌های گروه‌های مورد مطالعه ثبت و در جدول ۴ ارائه گردیده‌است که مشاهده می‌شود در دام‌های واکسینه‌شده و شاهد، بعد از چالش با ویروس تغییر محسوس و معنی‌داری در میزان درجه حرارت رکتومی ایجاد نشده‌است ($p>0/05$). همچنین بررسی‌های آماری نشان داد که هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری در میزان تعداد تنفس و تعداد ضربان قلب گوساله‌ها، در گروه‌های مورد مطالعه و در روزهای مختلف وجود ندارد ($p>0/05$).

جدول ۴- میانگین درجه حرارت رکتومی گوساله‌ها (میانگین±خطای استاندارد، برحسب درجه سیلسیوس) در گروه‌های مختلف برای ارزیابی کارایی واکسن لمپی‌اسکین در مرحله چالش با ویروس

روز	گروه ۱ (دریافت‌کننده تک‌دز واکسن)	گروه ۲ (دریافت‌کننده ۱۰ دز واکسن)	گروه ۳ (شاهد/ دریافت‌کننده حلال واکسن)
۱	۳۸/۲۰ ± ۰/۱۲	۳۸/۶۵ ± ۰/۲۵	۳۸/۴۸ ± ۰/۱۶
۳	۳۷/۸۰ ± ۰/۱۱	۳۸/۴۰ ± ۰/۱۰	۳۸/۸۴ ± ۰/۳۸
۷	۳۸/۸۰ ± ۰/۱۸	۳۷/۰۵ ± ۰/۳۵	۳۸/۴۸ ± ۰/۳۶
۱۰	۳۸/۰۰ ± ۰/۲۴	۳۸/۲۵ ± ۰/۳۵	۳۸/۸۴ ± ۰/۴۹
۱۴	۳۷/۷۰ ± ۰/۳۴	۳۷/۷۵ ± ۰/۳۵	۳۹/۰۵ ± ۰/۴۱

-**نمره واکنش بالینی**: میانگین نمره واکنش بالینی (Clinical Response Scoring) در گوساله‌های گروه‌های مورد مطالعه و در روزهای مختلف در جدول شماره۵ نمایش داده شده‌است. مقایسه آماری میانگین نمره واکنش بالینی بین گروه‌ها نشان داد که در روزهای اول، سوم و هفتم پس از چالش با ویروس پاتوژن، اختلاف آماری معنی‌داری در گروه‌های مختلف وجود ندارد، اما در روز چهاردهم پس از چالش، اختلاف آماری معنی‌داری بین سه گروه مشاهده شد ($p=0/04$)، به‌طوری‌که بیشترین میزان نمره واکنش بالینی در این روزها در گوساله‌های گروه شاهد و کمترین میزان نمره واکنش بالینی، در دام‌های گروه‌های واکسینه‌شده و خصوصاً گروه ۱ (دریافت‌کننده تک‌دز از واکسن) وجود داشت. مقایسه آماری بین گروه‌های ۱ و ۳ (شاهد) در روز چهاردهم مطالعه هم، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بود ($p=0/03$).

همچنین مقایسه آماری در درون گروه‌ها، در روزهای مختلف نشان داد که در گوساله‌های گروه ۱، اختلاف آماری معنی‌داری در میانگین میزان نمره واکنش بالینی وجود ندارد ($p>0/05$)، به‌طوری‌که درگروه مذکور، در روزهای ۱، ۳، ۷ و ۱۴ چالش با ویروس، میانگین میزان نمره واکنش بالینی صفر بود. مقایسه آماری درون گروه ۲ (دریافت‌کننده ۱۰ دز از واکسن)، نیز نشان داد اختلاف آماری معنی‌داری در میانگین میزان نمره واکنش بالینی وجود ندارد ($p>0/05$) و در این گروه در روزهای ۱، ۳ و ۱۴ میانگین میزان نمره واکنش بالینی صفر و در روز هفتم، ۰/۵۰ بود. اما مقایسه آماری درون گروه ۳ (شاهد) در روزهای مختلف نشان داد، اختلاف آماری معنی‌داری در میانگین میزان نمره واکنش

بالینی وجود دارد (p=۰/۰۱۵)، به‌طوری‌که در این گروه در روز آغاز چالش با ویروس (روز یک) میانگین میزان نمره واکنش بالینی صفر بود اما با گذشت زمان و در طول مطالعه، بر میانگین میزان نمره واکنش بالینی افزوده شد. بنابراین دام‌های واکسینه‌شده با یک دز و ۱۰ دز واکسن در گروه‌های ۱ و ۲، متعاقب چالش با ویروس فیلد، تا پایان مطالعه علائمی دال بر درگیر شدن به بیماری لمپی‌اسکین را نشان ندادند (شکل ۲).

جدول ۵- میانگین نمره واکنش بالینی در گروه‌های مختلف برای ارزیابی کارایی واکسن لمپی‌اسکین در مرحله چالش با ویروس در روزهای مختلف.

روز	گروه ۱ (دریافت‌کننده تک‌دز واکسن)	گروه ۲ (دریافت‌کننده ۱۰ دز واکسن)	گروه ۳ (شاهد/ دریافت‌کننده حلال واکسن)
۱	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰
۳	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۳/۰۰ ± ۲/۸۳
۷	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۵۰ ± ۰/۷۱	۶/۰۰ ± ۱/۴۱
۱۴	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۵/۵۰ ± ۰/۷۱

(الف) (ب)

شکل ۲- عدم مشاهده ضایعات پوستی و عوارض جانبی در ارزیابی کارایی واکسن در مرحله چالش با ویروس در دام‌های گروه ۱ (الف) و گروه ۲ (ب).

بحث و نتیجه‌گیری

با وجود استفاده از روش‌های مختلف برای کنترل بیماری لمپی‌اسکین در کشورهای درگیر بیماری، موثرترین روش، استفاده از یک واکسن مناسب با قابلیت ایمنی‌زائی موثر جهت واکسیناسیون بیش از ۸۰ درصد جمعیت حساس است (Tuppurainen *et al.*, 2014; Empress360, 2017). در راستای کنترل موثر بیماری با واکسیناسیون یکی از موضوعات اساسی و کلیدی توانایی مناسب ایمنی‌زائی و اثربخشی واکسن در مواجهه با ویروس فیلد است. با توجه به مطالعات قبلی یکی از مشکلات کشورهای آندمیک در کنترل بیماری اثربخشی کم واکسن بوده‌است (Ayelet *et al.*, 2013; Empress360, 2017). بهترین روش جهت اطمینان از اثربخشی واکسن‌ها در شرایط فیلد، چالش ویروس با دام‌های واکسینه و مقایسه با گروه غیر واکسینه می‌باشد. در مطالعات متعددی اثربخشی و ایمنی‌زائی مناسب و

کارائی واکسن‌های همولوگ لمپی‌اسکین نشان داده شده است (Tuppurainen *et al.*, 2020; Gubbins *et al.*, 2020).

هاگمن و همکاران در سال ۲۰۲۱ در مطالعه‌ای بر روی ۵ نوع واکسن تجاری همولوگ لمپی‌اسکین نشان دادند که هر ۵ واکسن مورد استفاده در مطالعه، در برابر چالش با سویه فیلد ویروس بیماری لمپی‌اسکین محافظت ایجاد می‌کنند. مطالعه مذکور، شامل ۴ کارآزمایی بالینی در گوساله‌های نر ۶ ماهه جهت ارزیابی اثربخشی و ایمنی زائی واکسن‌های مختلف همولوگ لمپی‌اسکین بود که در هر کارآزمایی یک گروه واکسینه و یک گروه شاهد انتخاب شده‌بودند. گروه واکسینه شامل ۷ رأس دام و گروه شاهد شامل ۵ رأس بود که دام‌های هر ۲ گروه، در روز ۲۱ پس از واکسیناسیون با ویروس سویه فیلد چالش داده شدند و در ادامه دام‌ها برای ۲۱ روز پس از چالش، به‌طور روزانه مورد مانیتورینگ علائم بالینی و نمونه‌برداری قرار گرفتند. در ارزیابی بالینی تورم در محل تزریق، کاهش مصرف خوراک، بروز ندول جلدی، تورم عقده لنفاوی و تب ثبت گردید. بر اساس یافته‌های این مطالعه، تمام دام‌های گروه‌های شاهد (مجموعا ۲۰ رأس) تب را نشان دادند و اوج تب در روزهای ۷ تا ۹ بعد از چالش، ولی کاهش مصرف خوراک تنها در ۱۰درصد از دام‌های مذکور (شامل ۲ رأس) مشاهده شد (Haegeman *et al.*, 2021). در مطالعه حاضر با وجود این‌که تفاوت آماری معنی‌داری در میانگین درجه حرارت رکتال دام‌های ۳ گروه مورد مطالعه (شاهد و ۲ گروه واکسینه‌شده) در روزهای مختلف پس از مواجهه با ویروس فیلد پاتوژن مشاهده نشد، ولی در ۴ رأس از ۵ رأس از دام‌های گروه شاهد، بعد از چالش با ویروس تب مشاهده گردید (جدول ۴) . به‌نظر می‌رسد که عدم وجود اختلاف آماری معنی‌دار در مقدار میانگین درجه حرارت رکتومی در دام‌های گروه شاهد با دام‌های ۲ گروه واکسینه‌شده، وجود اختلاف زمانی در بروز تب در دام‌های گروه شاهد و عدم تداوم تب در روزهای مختلف پس از چالش با ویروس، در اکثریت دام‌های مذکور بوده که در نتیجه میانگین دمای رکتال دام‌ها در روزهای مختلف تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر را نشان نداده‌است. همچنین ۲ رأس از ۵ رأس از دام‌های گروه شاهد، افزایش درجه حرارت رکتومی به شکل تب را به مدت ۹ روز پس از چالش با ویروس، به‌طور مستمر نشان دادند (جدول ۴) . همچنین یکی دیگر از یافته‌های به دست آمده در مطالعه حاضر که در دیگر تحقیقات نیز مشاهده شده‌است این است که شدت و شکل عوارض مشاهده شده بین دام‌های یک گروه نیز با یکدیگر تفاوت داشتند. از طرف دیگر در طی کارآزمایی بالینی حاضر، تمامی ۵ رأس دام گروه شاهد پس از مواجهه با ویروس بیماری‌زا، ضایعات جلدی به شکل ندول را با درجات مختلف نشان دادند (شکل ۲)، در-حالی‌که در هیچ یک از دام‌های واکسینه‌شده، ضایعات جلدی بروز نکرد (شکل ۱). ایجاد ندول‌های جلدی هم از روز ۷ پس از چالش با ویروس شروع شده و تا پایان مطالعه مشاهده می‌شد. میانه نمره ندول نیز در روز ۷ پس از چالش، در دام‌های گروه کنترل نسبت به دام‌های گروه واکسینه‌شده افزایش نشان داد (جدول ۳). در حالی که در مطالعه انجام‌شده توسط هاگمن و همکاران در سال ۲۰۲۱، ندول جلدی تنها ۵۰ درصد از دام‌های گروه کنترل، از روز ششم تا دهم پس از چالش مشاهده

و تا انتهای مطالعه ادامه داشته‌است (Haegeman *et al.*, 2021). این تفاوت در نتایج می‌تواند ناشی از تفاوت در قدرت بیماری‌زایی سویه‌های مختلف ویروس چالش و تفاوت‌های ژنتیکی در دام‌ها باشد.

توانایی واکسن‌های همولوگ جهت کنترل بیماری در طی سنوات قبل در کشورهای افریقایی و در سال‌های ۲۰۱۲ تا ۲۰۱۳ در اسرائیل، ۲۰۱۴ تا ۲۰۱۵ در مقدونیه شمالی و در سال‌های ۲۰۱۶ تا ۲۰۱۷ در منطقه بالکان بخوبی نشان داده شده‌است (Tuppurainen *et al.*, 2017; Klement *et al.*, 2020; Haegeman *et al.*, 2021). البته در یک مطالعه انجام گرفته در جمیعت محدودی گاو در اتیوپی، توانایی ایمنی‌زائی واکسن همولوگ بررسی و مشخص گردیده که واکسن مورد استفاده ایمنی‌زائی موثری را ایجاد نکرده‌بود. در توجیه نتایج هم ذکر شده که عدم کارائی این واکسن و عدم ایجاد ایمنی‌زائی مناسب، احتمالاً به‌علت روند نامناسب در تولید واکسن و تخفیف حدت بیش از حد واکسن استفاده‌شده، بوده‌است (Ayelet *et al.*, 2013). در مطالعه‌ای اثربخشی ۲ نوع واکسن شامل واکسن همولوگ حاوی سویه نیتلینگ و واکسن هترولوگ حاوی آبله گوسفندی RM-65 با استفاده از ۱۰ برابر دز، در ۴۶۹۴ رأس گاو مربوط به ۱۵ گله گاوشیری مقایسه شد. همه دام‌های گله‌های مذکور، ۲ تا ۵ ماه قبل از درگیری با بیماری لمپی‌اسکین، واکسینه شده‌بودند و هر روز توسط دامدار و ۲ بار در هفته توسط دامپزشک بررسی می‌شدند. براساس یافته‌های این تحقیق، پس از واکسیناسیون و شیوع بیماری، تعداد ۸۹ رأس گاو از ۸ گله، علی‌رغم واکسیناسیون، علائم بالینی بیماری لمپی‌اسکین را نشان دادند که ۵۱ رأس از این دام‌ها متعلق به گروه واکسینه‌شده با آبله گوسفندی RM-65 با ۱۰ برابر دز (بروز برابر با ۲/۹۹ درصد) و ۳۱ رأس دام هم مربوط به گروه واکسینه‌شده با سویه نیتلینگ (بروز برابر با ۱/۹۵ درصد) بود. تعداد ۷ رأس از دام‌هایی که در این مطالعه علائم بالینی لمپی‌اسکین را نشان دادند، علی‌رغم دریافت واکسن در این دوره، قبلاً هیچ واکسنی را دریافت نکرده بودند. همچنین مشخص گردید که محافظت ایجادشده توسط واکسن همولوگ در این مطالعه در مقایسه با واکسن آبله گوسفندی در شرایط فیلد چهار برابر بالاتر بوده‌است (Ben-Gera *et al.*, 2015). گری و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵، در طی مطالعه‌ای اثربخشی و بی‌خطری ۳ نوع واکسن، شامل آبله بزی سویه گرگان، لمپی‌اسکین KSPG O-180 و سویه نیتلینگ را در ۲ دز $10^{3/5}$ و $10^{4/5}$ بررسی کرده‌اند که در مطالعه مذکور تعداد ۳۵ رأس گاو یک تا دو ساله فاقد آنتی‌بادی علیه ویروس لمپی‌اسکین، به ۷ گروه ۵ رأسی تقسیم و در مجموع ۳ گروه واکسینه‌شده بطوری که هر گروه واکسینه با دو دز $10^{3/5}$ و $10^{4/5}$ واکسینه و همچنین یک گروه شاهد در نظر گرفته شده‌بود. کل دام‌ها در روز سی‌ام پس از واکسیناسیون، با استفاده از ۲ میلی‌لیتر ویروس سویه نیتلینگ داخل وریدی، به میزان 10^{5} TCID50 چالش شدند. پس از چالش مشخص شد که تزریق واکسن سویه نیتلینگ تنها به‌طور متوسط در ۳۰ درصد از دام‌های واکسینه‌شده ایمنی‌زائی در برابر چالش با ویروس واکسن را ایجاد کرده‌بود، به‌طوری که در گروه واکسینه با دز $10^{4/5}$ ۴۰ درصد از دام‌ها و در دز $10^{3/5}$ در ۲۰ درصد از دام‌های واکسینه ایمنی ایجاد شده‌بود ، درحالی‌که ۵۰ درصد از دام‌های واکسینه‌شده با واکسن KSPG O-180 نیز در برابر چالش ایمن نبودند، ولی دام‌هایی که واکسن آبله سویه گرگان را دریافت

کـرده‌بودنـد در برابـر چـالش بـا ویـروس وحشـی لمپی‌اسـکین، مقاومـت کردنـد (Gari *et al*., 2015). در مطالعه حاضر هم براساس یافته‌های بـالینی ثبـت‌شـده و مخصوصاً میانه نمره واکنش بالینی (جدول ۳)، مشخص گردیـد کـه تمـامی دام‌هـای واکسینه‌شـده اعـم از دریافت‌کنندگان تک دز و ۱۰ برابر دز، در مقابل چـالش با ویروس وحشی مقاومت نمودنـد و تـب یـا علائمـی مبنی بر بروز بیماری را نشان ندادند. از طرف دیگـر، در مطالعه حاضر نتایج حاصله از ثبت دما و علائم حیاتی و نمـره‌دهـی علائـم بـالینی، نشـان‌دهنـده تـاثیر واکسـن همولوگ تولید داخلـی در جلـوگیری از وقـوع بیمـاری لمپی‌اسـکین در گوسـاله‌هـای واکسـینه‌شـده (دام‌هـای گروه‌های ۱ و ۲) می‌باشد. درحالی‌که گوساله‌های شاهد (گروه ۳) که هیچ واکسنی دریافت نکرده بودند، پـس از مواجهه با ویروس، علائم بالینی بیمـاری لمپی‌اسـکین را به شکل تیپیک نشان دادند و حتی در یک راس گوسـاله به دلیل شدید بودن علائم، دام زمین‌گیر گردیـد (شـکل ۱).

نتیجه نهائی این‌که، با توجه بـه یافتـه‌هـای مطالعـه حاضر مشخص گردید، دام‌های واکسینه‌شده بـا تـک دز $10^{3/5}$ TCID50 و نیـــز ۱۰ برابـــر دز $10^{3/5}$ TCID50 واکسن همولوگ سویه نیتلینگ تولید داخلی، در مقایسه با دام‌هـای گـروه شـاهد، در برابـر چـالش بـا ویـروس لمپی‌اسکین در گردش در ایـران (بـه روش‌هـای داخـل جلدی و وریدی) به‌طور کامل ایمن شدند و علـی‌رغـم مشاهده علائمی دال بـر بیمـاری لمپـی‌اسـکین در تمـام دام‌های گروه شاهد، هیچ‌یک از دام‌هـای واکسـینه‌شـده، علامتی مربوط به بیماری لمپی‌اسکین را پـس از چـالش با ویروس، نشان ندادند. در ضمن با توجه به این‌کـه در اغلـب مطالعـاتی کـه میـزان ایمنـی‌زائـی و اثربخشـی واکسـن‌های مـورد اسـتفاده بـرای کنتـرل بیمـاری لمپی‌اسـکین را مـورد ارزیـابی قـرار داده‌انـد، از روش چالش در برابر ویروس فیلد استفاده نشـد، لـذا بـه نظـر می‌رسد که نتایج حاصله از مطالعه حاضر، مفیدتر باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان از آقای دکتر ناظری برای همکـاری در انجام این تحقیق قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام مـی‌دارنـد کـه هـیچ‌گونـه تضـاد منافعی ندارد.

منابع

- Abutarbush, S.M., Hananeh, W.M., Ramadan, W., Al Sheyab, O.M., Alnajjar, A.R., Al Zoubi, I.G., *et al*. (2016). Adverse reactions to field vaccination against lumpy skin disease in ordan. Transboundary and Emerging Diseases, 63(2): e213-e219.
- Ayelet, G., Abate, Y., Sisay, T., Nigussie, H., Gelaye, E., Jemberie, S., *et al*. (2013). Lumpy skin disease: preliminary vaccine efficacy assessment and overview on outbreak impact in dairy cattle at Debre Zeit, central Ethiopia. Antiviral Research, 98(2): 261-265 .

- Arjomandi, N., Haji Hajikolaei, M.R., Seyfi Abad Shapouri, M.R. and Dagheri, M. (2015). Comparison of commercial ELISA kit with serum neutralization (SN) in diagnosis of BHV-1 infections in water buffalo (Buballous buballis). Journal of Veterinary Clinical Pathology, 9(35): 219-229. [In Persian]
- Ben-Gera, J., Klement, E., Khinich, E., Stram, Y. and Shpigel, N. (2015). Comparison of the efficacy of Neethling lumpy skin disease virus and x10RM65 sheep-pox live attenuated vaccines for the prevention of lumpy skin disease–The results of a randomized controlled field study. Vaccine, 33(38): 4837-4842 .
- Carn, V. and Kitching, R. (1995). The clinical response of cattle experimentally infected with lumpy skin disease (Neethling) virus. Archives of Virology, 140(3): 503-513.
- Elschner, M. C., Laroucau, K., Singha, H., Tripathi, B. N., Saqib, M., Gardner, I., *et al*. (2019). Evaluation of the comparative accuracy of the complement fixation test, Western blot and five enzyme-linked immunosorbent assays for serodiagnosis of glanders. PLoS One, 14(4): e0214963.
- Food and Agriculture Organization, Empress360. (2017). Lumpy skin disease special issue. Empress360(47/2017). Retrieved from Empres-Animal-Health@FAO.ORG
- Gari, G., Abie, G., Gizaw, D., Wubete, A., Kidane, M., Asgedom, H., *et al*. (2015). Evaluation of the safety, immunogenicity and efficacy of three capripoxvirus vaccine strains against lumpy skin disease virus. Vaccine, 33(28): 3256-3261.
- Gubbins, S., Stegeman, A., Klement, E., Pite, L., Broglia, A. and Abrahantes, J.C. (2020). Inferences about the transmission of lumpy skin disease virus between herds from outbreaks in Albania in 2016. Preventive Veterinary Medicine, 181: 104602
- Haegeman, A., De Leeuw, I., Mostin, L., Campe, W.V., Aerts, L., Venter, E., *et al*. (2021). Comparative Evaluation of Lumpy Skin Disease Virus-Based Live Attenuated Vaccines. Vaccines, 9(5): 473.
- Hamdi, J., Bamouh, Z., Jazouli, M., Boumart, Z., Tadlaoui, K. O., Fihri, O. F., et al. (2020). Experimental evaluation of the cross-protection between Sheeppox and bovine Lumpy skin vaccines. Scientific Reports, 10(1): 1-9 .
- Hamdi, J., Boumart, Z., Daouam, S., El Arkam, A., Bamouh, Z., Jazouli, M., *et al*. (2020). Development and Evaluation of an Inactivated Lumpy Skin Disease Vaccine for Cattle. Veterinary Microbiology, 245, 108689. doi:https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108689.
- Hedayati, Z., Varshovi, H.R., Mohammadi, A. and Tabatabaei, M. (2021). Molecular characterization of lumpy skin disease virus in Iran (2014–2018). Archives of Virology, 1-5.
- Katsoulos, P.D., Chaintoutis, S., Dovas, C., Polizopoulou, Z., Brellou, G., Agianniotaki, E., *et al*. (2018). Investigation on the incidence of adverse reactions, viraemia and haematological changes following field immunization of cattle using a live attenuated vaccine against lumpy skin disease. Transboundary and Emerging Diseases, 65(1): 174-85.
- Klement, E., Broglia, A., Antoniou, S.E., Tsiamadis, V., Plevraki, E., Petrović, T., *et al*. (2020) Neethling vaccine proved highly effective in controlling lumpy skin disease epidemics in the Balkans. Preventive Veterinary Medicine, 181: 104595.
- Mikhael, C.A, Nakhla, O.E. and Mohamed, N.A. (2017). Study on the capability of a dual capripox vaccine in protection of cattle against LSD infection. Journal of Veterinary Medical Research, 24(1): 61-70.
- Mathijs, E., Vandenbussche, F., Haegeman, A., King, A., Nthangeni, B., Potgieter, *et al*. (2016). Complete genome sequences of the Neethling-like lumpy skin disease virus strains obtained directly from three commercial live attenuated vaccines. Genome Announcements, 4(6): e01255-01216.
- Mercier, A., Arsevska, E., Bournez, L., Bronner, A., Calavas, D., Cauchard, J., *et al*. (2018). Spread rate of lumpy skin disease in the Balkans, 2015–2016. Transboundary and Emerging Diseases, 65(1): 240-243.
- Nadalian, M.Gh., Tadjbakhsh, H., Mokhber Dezfouli, M.R. and Akbarein, H. (2017). A review of the most important Zooneses with a special vision towards emerging and re-emerging diseases and its

status in Iran Part (1): Bacterail zoonoses. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 11(43): 197-223. [In Persian]

- Ngichabe, C., Wamwayi, H., Barrett, T., Ndungu, E., Black, D. and Bostock, C. (1997). Trial of a capripoxvirus-rinderpest recombinant vaccine in African cattle. Epidemiology & Infection, 118(1): 63-70 .
- Office International des Epizooties (OIE). (2021). OIE Terrestrial Manual, Chapter 3.4.12. Lumpy Skin Disease.
- Sadeghian- Chaleshtori, S., Sharifzadeh, A., Ragh, J., Tavanaeimanesh, H. and Ahmadi, A. (2018). Occurrence of dermatophytosis in different age groups in a dairy farm around Tehran. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 11(44): 349-356. [In Persian]
- Tageldin, M.H., Wallace, D.B., Gerdes, G.H., Putterill, J.F., Greyling, R.R., Phosiwa, M.N., *et al*. (2014). Lumpy skin disease of cattle: an emerging problem in the Sultanate of Oman. Tropical Animal Health and Production, 46(1): 241-24.
- Tuppurainen, E.S.M., Antoniou, S.E., Tsiamadis, E., Topkaridou, M., Labus, T., Debeljak, Z., *et al*. (2020). Field observations and experiences gained from the implementation of control measures against lumpy skin disease in South-East Europe between 2015 and 2017. Preventive Veterinary Medicine,181: 104600.
- Tuppurainen, E. and Oura, C. (2012). lumpy skin disease: an emerging threat to Europe, the Middle East and Asia. Transboundary and Emerging Diseases, 59(1): 40-48 .
- Tuppurainen, E., Venter, E.H., Shisler, J., Gari, G., Mekonnen, G., Juleff, N., *et al*. (2017). Capripoxvirus diseases: current status and opportunities for control. Transboundary and Emerging Diseases, 64(3), 729-745.
- Tuppurainen, E.S., Pearson, C.R., Bachanek-Bankowska, K., Knowles, N.J., Amareen, S., Frost, L., *et al*. (2014). Characterization of sheep pox virus vaccine for cattle against lumpy skin disease virus. Antiviral Research, 109: 1-6.