

טיפול בפרות נגועות תוך-עטינית בסטפילוקוקוס אוראוס באמצעות תרכיב MASTIVAC-I וחסון מונע לשאר העדר

ג. לייטנר¹, א. שרן¹, א. קריפוקס¹, א. גליקמן¹, מ. וינקלר¹, ל. ויסבלט¹, ש. פרידמן²,
א. יונס¹, י. ועדיה³, ת. לוי⁴, ק. יגאנה⁴, ע. נהוראי⁵, א. לובשבסקי², ז. טריינין²,
¹המעבדה למחלות עטין; ²המערך הארצי לבריאות העטין;
³רופא וטרינר; ⁴אסיא מעברות; ⁵בית אלפא

מבוא

מחלות העטין מהוות בעיה חמורה במשק החלב. האמצעים למניעת המחלה מורכבים ובמקרים רבים בלתי יעילים. סטפילוקוקוס אוראוס הינו חידק אלים ודומיננטי בגרימת המחלה. חשיבותו הרבה היא ביכולתו להתקיים בעדר גם כאשר רמות הממשק וההיגיינה מספקות. הנוקים הכלכליים רבים ביותר למשק החלב בעדרי הבקר והצאן. נפיצות המחלה בארצות השונות נעה בין 10% ל-40% מכלל הפרות בעדר. בארץ נפיצותו נמוכה יותר וזאת כתוצאה בין היתר מהוצאה מזורזת של פרות בעלות רמת תאים סומטיים גבוהה בחלב. הפרות המזוהמות מהוות מאגר זיהומי לשאר הפרות בעדר.

נכון להיום, הטיפול הכמעט בלעדי לזיהום בסטפ' אוראוס הוא מניעה: חיטוי פטמות והוצאת פרות חיוביות מהעדר וכן טיפול אנטיביוטי תוך-עטיני בתקופת היובש. לשיטות אלה הצלחה מוגבלת בהדברת הזיהום (לאחר חדירתו לעטין). המאמצים לפיתוח חיסון לדלקת העטין כנגד סטפ' אוראוס בוצעו במספר מעבדות בעולם במשך שנים רבות, אך נכון להיום, בשוק אין מוצר מדף העונה על הצפיות. בעשור האחרון נערך מחקר במסגרת המכון הווטרנירי בשיתוף עם 'מוצרי מעברות', שמטרתו היתה פיתוח תרכיב יעיל כנגד סטפ' אוראוס בבקר לחלב. תוצאות המחקר והפיתוח הסתיימו בייצור תרכיב מעבדתי המורכב מחלקי חידק שונים מ-3 תת-זנים של סטפ' אוראוס אשר בודדו ממקרים קליניים בשדה. התרכיב המעבדתי עבר סדרת ניסויים מבוקרים בתחילה במודל עכברים ולאחר מכן בחיית המטרה, הבקר. התרכיב נמצא יעיל

בהגנה של 70% בפני הוקעה מלאכותית של סטפ' אוראוס אלימים, הן הומולוגית והן הטרוולוגית, כאשר המדד היה מניעת זיהום וכן הגנה של 100%, כאשר המדד היה מניעת עליית סת"ס. בניסויי שדה נרחבים (כ-250 פרות שחוסנו ו-250 פרות ביקורת) יעילותו התבטאה בכך שמנע עליית סת"ס ותנובת החלב היתה גבוהה משמעותית בפרות המוחסנות.

לא נצפו כל תופעות לוואי בבריאות בעלי החיים שחוסנו. לאור הצלחה זאת, הוחל בייצור תרכיב מסחרי שקיבל את השם MASTIVAC-I (Patent # 122829) (Ref 1,2,3). במאמר זה מתואר ניסוי שדה ברפת נגועה עם התרכיב המסחרי MASTIVAC-I.

תאור הבעיה

עדד בית אלפא כלל פרות בשלבי תחלובה שונים ועגלות בכל הגילים. בעקבות עליה במספר התאים הסומטיים (סת"ס) בטנק החלב נבדקו כל הפרות החולבות במשק על ידי אנשי המעבדה בקיסריה ואובחנו כ-60 פרות נגועות בסטפ' אוראוס. העדר היה מחולק לשני אזורים ותנאי ממשק: 1. באזור הרפת הישנה – חליבה במכון חליבה שדרת-דג. 2. רפת חדשה – רובוט חליבה. כל הפרות אשר נמצאו נגועות בסטפ' אוראוס, אוחדו לקבוצה אחת, באזור הרפת הישנה ונחלבו אחרונות.

מהלך הניסוי

על מנת לחלק את כלל העדר לקבוצות הניסוי נלקחו דוגמאות דם מכל הפרות והעגלות (מעל 130 ימי הריון) והנסייב נבדק לנוכחות נוגדנים ייחודיים לסטפ' אוראוס. פרות אשר לא נמצא מתאם בין נגיעות תוך-

המחוסנות ופרות בקבוצות הביקורת, באשר למהלך ההמלטה ותוצאותיה.

נגיעות תוך-עטינית בסטפ' אוראוס נבחנו בפועל לפני החיסון ולאחר כשנה. אי-לכך, ניתוח התוצאות לגבי הדבקה חדשה או החלמה במהלך הניסוי מתייחס רק לאותן הפרות שנשארו בעדר ונבדקו בבדיקה הכללית שנערכה כשנה לאחר החיסון. מספר הפרות אשר נבדקו בשלב זה לפי קבוצות הניסוי מסוכם בטבלה 1. בקבוצה 1 הכוללת פרות ועגלות מחוסנות, אובחנו 2 פרות חיוביות מתוך 104 שנבדקו (1.9%). בעוד שבקבוצה המקבילה, קבוצה 2, (בנות הזוג לקבוצה 1) אובחנו 14 פרות חיוביות מתוך 104 שנבדקו (13.5%). ההבדל באחוז ההדבקה יצא מובהק משמעותית ($P < 0.05$). בקבוצה 3 הכוללת פרות נגועות אשר חוסנו נמצאו 6 מתוך 20 (30%) פרות ללא סטפ' אוראוס בחלבן בבדיקה שנה לאחר החיסון. לעומת פרות אלה, בבנות זוגן בקבוצה 4 אשר הוזרקו בפֶּלֶסְבוֹ, רק פרה אחת מתוך 16 הפרות שנבדקו בסוף הניסוי נמצאה ללא החידק. משמע אחוז "התנקות" מהחידק באופן ספונטני או באמצעות טיפול ביובש עמד על 6.25%. ההבדל באחוז הזיהום בסטפ' אוראוס היה מובהק ברמה של $P = 0.07$.

לפני החיסון, לא נמצאו נוגדנים ייחודיים בפרות אשר אובחנו כלא-נגועות. (טבלה 2). בקבוצה המחוסנת ללא נגיעות בסטפ' אוראוס, עלתה רמת הנוגדנים לאחר מתן החיסון הראשוני מ- 0.01 ± 0.04 (רמת רקע) ל- 0.06 ± 0.81 ביום ה-49, והגיעה לרמה של 0.07 ± 1.07 לאחר מתן החיסון השניוני. לאחר 338 ימים ממתן החיסון היתה רמה של 0.05 ± 0.36 . באותה עת נמצאה בקבוצת הביקורת ללא נגיעות בסטפ' אוראוס, (קבוצה 2) רמת נוגדנים של 0.05 ± 0.24 . בנייתוח רמת הנוגדנים בשתי הקבוצות על פי השינוי בסטטוס הבקטריולוגי בעטין, דהיינו מפרה לא נגועה בחידק לנגועה, נמצא כי העליה ברמת הנוגדנים בקבוצת הביקורת נבעה מהדבקה חדשה: כל הפרות אשר בדמן נמצאו הנוגדנים הייחודיים, נמצאו נגועות בסטפ' אוראוס.

עטינית בסטפ' אוראוס ונוכחות נוגדנים ייחודיים, נבחנו בשנית: חלב ודם.

העדר מנה 267 פרות מתוכן הוכנסו לניסוי 261 (6 פרות שנמצאו כ-30 ימים לפני ההמלטה לא הוכנסו לניסוי). הפרות חולקו לזוגות על פי: נגיעות תוך-עטינית בסטפ' אוראוס, רמת הנוגדנים הייחודיים, מספר התחלובה, מספר הימים בתחלובה הנוכחית, סת"ס בשתי שקילות החלב הקודמות לתחילת הניסוי וימים בהריון. 70 עגלות חולקו לזוגות לפי ימים בהריון ורמת הנוגדנים הייחודיים.

קבוצות הניסוי:

- 137 פרות ועגלות, לא נגועות בסטפ' אוראוס, חוסנו ב-MASTIVAC-I.
 - 135 פרות ועגלות ביקורת, לא נגועות בסטפ' אוראוס.
 - 29 פרות, נגועות בסטפ' אוראוס חוסנו ב-MASTIVAC-I.
 - 30 פרות ביקורת, נגועות בסטפ' אוראוס, חוסנו בפֶּלֶסְבוֹ. (מרכיבי האג'ובנט ללא התרכיב בנפח של 2 מ"ל).
- פרות ועגלות בקבוצה 1 ו-3 חוסנו בתרכיב מסחרי MASTIVAC-I, בהזרקה תת-עורית בשורש הזנב (2 מ"ג חלבון בנפח של 2 מ"ל). פרות בקבוצה 4, חוסנו בפֶּלֶסְבוֹ. פרות בקבוצה 2 לא הוזרקו כלל. בימים הראשונים שלאחר ההזרקה נבדקו מדגמית חלק מהפרות לתגובה מקומית וכלל הפרות למצב בריאותי כללי. 49 ימים לאחר מתן החיסון הראשוני נלקחו דוגמאות דם מכל הפרות והעגלות (שנשארו) בקבוצות 3, 1 ו-4 והן חוסנו פעם שניה באותו האופן של החיסון הראשוני. מספר פרות ועגלות שהיו פחות מ-20 ימים לפני ההמלטה או 10 ימים לאחר ההמלטה לא חוסנו בחיסון השניוני. דוגמאות דם נוספות נלקחו לאחר 82 ימים ממתן החיסון הראשוני (35 ימים מהחיסון השניוני) וכן 338 ימים לאחר החיסון הראשוני (מכל הפרות כולל קבוצה 2).

תוצאות

לא אובחנה כל תופעת לוואי לאחר מתן החיסון. לא היה כל הבדל בין קבוצות

טבלה 1. מספר הפרות והעגלות הכללי, מספר הפרות הנגועות בסטפ' אוראוס, בתחילת הניסוי ובסופו, ואחוז ההדבקה (+) או ההחלמה (הניקוי) (-) לאורך הניסוי.

הקבוצה	מספר פרות בתחילת הניסוי	מספר פרות בסוף הניסוי	נגיעות תוך-עטינית בסטפ' אוראוס	
			תחילת הניסוי	סוף הניסוי
1 (נקי, מחוסנת)	137	104	0	2
2 (נקי, ביקורת)	135	104	0	14
3 (נגוע, מחוסנת)	29	20	29	14
4 (נגוע, פלסבו)	30	16	30	15

נקי - ללא סטפ' אוראוס בחלב; נגוע - נמצא סטפ' אוראוס בחלב.

טבלה 2. ממוצע וסטיית התקן של רמת הנוגדנים לפני ואחרי חיסון בתרכיב מסחרי MASTIVAC-I או ללא חיסון (ביקורת) בפרות ועגלות אשר נמצאו ללא נגיעות תוך-עטינית בסטפ' אוראוס לפני החיסון.

הקבוצה	נגיעות תוך-עטינית בסטפ' אוראוס		רמת נוגדנים
	לפני החיסון	לאחר החיסון	
1 (נקי, מחוסנת)	נקי 104	נקי 102	+ 338 ימים
104 ראש	נגוע 2	0	+ 82 ימים
2 (נקי, ביקורת)	נקי 104	כול הפרות	+ 49 ימים
104 ראש	נקי 90	0.04±.01	לא נבדק
	נגוע 14	0.03±.01	לא נבדק

נקי - ללא סטפ' אוראוס בחלב; נגוע - נמצא סטפ' אוראוס בחלב.

טבלה 3. ממוצע וסטיית התקן של רמת הנוגדנים לפני ואחרי חיסון בתרכיב מסחרי MASTIVAC-I או פלסבו (ביקורת) בפרות אשר נמצאו נגועות תוך-עטינית בסטפ' אוראוס לפני החיסון.

הקבוצה	נגיעות תוך-עטינית בסטפ' אוראוס		רמת נוגדנים
	לפני החיסון	לאחר החיסון	
3 (נגוע, מחוסנת)	נגוע	נקי	+ 338 ימים
29 ראש	נגוע	0.28±.01	+ 82 ימים
4 (נגוע, פלסבו)	נגוע	0.99±.21	+ 49 ימים
30 ראש	נקי	0.94±.17	לא נבדק
	נגוע	0	0

נקי - ללא סטפ' אוראוס בחלב; נגוע - נמצא סטפ' אוראוס בחלב.

החלב גבוהה ב-0.12 ק"ג חלב ליום (טבלה 4).
הבדלים אלה לא נמצאו בעלי משמעות
סטטיסטית. ממוצע הסת"ס בקבוצה 3
(מחוסנת) לעומת קבוצה 4 (ביקורת) נמצא
נמוך ב-430,000 תאים וכמות החלב נמוכה ב-
0.12 ק"ג חלב ליום. ההבדלים בסת"ס נמצאו
בעלי משמעות סטטיסטית ($P < 0.001$). לשש
הפרות שבחלבן לא נמצא סטפ' אוראוס לאחר
החיסון (338 ימים) היה ממוצע סת"ס של
711,000 תאים למ"ל חלב, לעומת כלל קבוצה
3 (כוללת את 14 הפרות הנגועות) וקבוצה 4
(פֶּלְסְבוֹ) (905,000 ו-1,335,000, בהתאמה).
בניתוח נוסף של התאים הסומטיים בפרות
בקבוצה 3, בין אלה שלא נמצאו מזוהמות
לאחר החיסון (6 פרות) והאחרות שנשארו
מזוהמות (14), נמצא הבדל של כ-200,000
תאים למ"ל פחות בפרות ה"נקיות".

טבלה 4. ממוצע וסטיית התקן של מספר התאים הסומטיים ותגובת החלב במשך שנה
לפי קבוצות הטיפול בפרות אשר חוסנו בתרכיב מסחרי MASTIVAC-I או פלסבו
(ביקורת).

ממוצע חלב (ק"ג/יום)	ממוצע תאים סומטיים (1000)	הקבוצה
31.11 ± 0.28	310 ± 19	1 (נקי, מחוסנת)
30.99 ± 0.27	324 ± 21	2 (נקי, ביקורת)
$0.12 +$, לא מובהק	$14 -$, לא מובהק	הפרש ומובהקות (1,2)
26.91 ± 0.71	905 ± 88	3 (נגוע, מחוסנת)
27.03 ± 0.59	1335 ± 119	4 (נגוע, פלסבו)
$0.12 -$, לא מובהק	$430 -$ ($P < 0.001$)	הפרש ומובהקות (4,3)

דיון ומסקנות

מזוהמות חדשות בסטפ' אוראוס לעומת 1.9%
בקבוצת הפרות המחוסנות; השני, ברמת
החיסון הטיפולי, כאשר בקבוצת הפרות
הנגועות בסטפ' אוראוס אשר חוסנו, נמצאו
30% ללא החידק לאחר שנה, בעוד שבקבוצת
הביקורת, אשר חוסנה בפלסבו, רק פרה אחת
מתוך 16 (6.25%) נמצאה ללא החידק. ממצא
זה נמצא באותה מגמה לניסויים הקודמים בהם
מצאנו ששבעה רבעים מתוך 10 "התנקו" לאחר
מתן חיסון ובמניין הפרות 3 מתוך 6 (Ref. 2)

למרות שלא נמצא הבדל סטטיסטי בין
קבוצת הפרות המחוסנות ופרות הביקורת

ברוב הפרות המזוהמות בסטפ' אוראוס
(קבוצה 3 ו-4), נמצאו נוגדנים ייחודיים ברמה
גבוהה עוד לפני החיסון (טבלה 3). בקבוצה
המחוסנת (קבוצה 3) הנגועה בסטפ' אוראוס,
עלתה רמת הנוגדנים לאחר מתן החיסון
הראשוני בחלק מהפרות. התוצאות המובאות
בטבלה 2 מציינות ממוצע של הפרות הנשארות
(עקב יציאה של כ-50% מהפרות במשך הניסוי).
ניתן לראות כי גם בפרות בהן לא נמצא סטפ'
אוראוס לאורך הניסוי, רמת הנוגדנים לא
השתנתה משמעותית.

כמות החלב והסת"ס הממוצע לאורך השנה
לאחר מתן החיסון, חושבו על פי נתוני ספר
העדר. הניתוח בוצע בין קבוצות 1 ו-2 ובין
קבוצות 3 ו-4, בהתייחסות במודל לעונת
השנה, ימים בתחלובה ומספר ההמלטה. ממוצע
הסת"ס בקבוצה 1 (מחוסנת) לעומת קבוצה 2
(ביקורת) נמצא נמוך ב-14,000 תאים וכמות

באופן כללי ניתן לומר, שתוצאות ניסוי זה עם
התרכיב המסחרי MASTIVAC-I הראו אותה
מגמה של התוצאות שהתקבלו עם התרכיב
הניסוי במכון הווטרינרי. התרכיב התגלה
כבטיחותי, הן בתגובה מקומית, והן ברמת
הבריאות הכללית של הפרות. הפרות
המחוסנות הגיבו בעליה של נוגדנים ייחודיים
לסטפ' אוראוס, ברמה משמעותית אשר נשמרה
עד תום הניסוי ביום ה-338 לאחר מתן החיסון
הראשוני. ניתן להצביע על שני ממצאים
עיקריים: האחד, ברמת החיסון המונע, בה
אובחנו 13.5% מהפרות בקבוצת הביקורת

גבוהים ב-430,000 תאים למ"ל, לעומת פרות בקבוצה המקבילה, קבוצה 3.

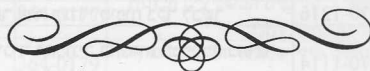
לא ברור מניסוי זה, האם ההבדל נובע מרמה ירודה של תגובה תאית, מעבר של תאים לבנים מהדם לחלב ברוב הפרות המוחסנות, ו/או מירידה משמעותית ב-6 הפרות אשר החידק לא נמצא בחלבן.

בסיכום נראה, שהחיסון MASTIVAC-I יכול להקטין משמעותית עד למנוע הדבקה חדשה בעדר בסטפ' אוראוס; דהיינו לעצור התפשטות הזיהום ואף לרפא חלק מהפרות המזוהמות.

(קבוצות 1,2) בסת"ס ובתנובת החלב, הסתמנה מגמה של מספר נמוך יותר של התאים הסומטיים ועליה בתנובת החלב בפרות המוחסנות. מגמה זאת זהה לממצא בניסוי השדה המבוקר שבוצע בניסוי השדה הקודם ושבנו היו ההבדלים מובהקים (3 Ref.). ההבדל בסת"ס בין קבוצות הפרות אשר היו נגועות בסטפ' אוראוס בזמן החיסון (קבוצות 3,4) נמצא מובהק, כאשר בקבוצה המוחסנת הסת"ס היה נמוך יותר. התאים הסומטיים בפרות בקבוצה הפלסבו (4) היו בממוצע

ספרות

- Leitner G., E. Lubashevsky and Z. Trainin. (2003). *Staphylococcus aureus* vaccine against mastitis in dairy cows, composition and evaluation in mouse model. *J. Vet. Immunol. Immunopath.* (In press).
- Leitner G., E. Lubashevsky, A. Glickman, M. Winkler, A. Saran and Z. Trainin. (2003). Development of a *Staphylococcus aureus* vaccine against mastitis in dairy cows. I. Challenge trials. *J. Vet. Immunol. Immunopath.* (In press).
- Leitner G., N. Yadlin, E. Lubashevsky, E. Ezra, A. Glickman, M. Chaffer, M. Winkler, A. Saran and Z. Trainin. (2003). Development of a *Staphylococcus aureus* vaccine against mastitis in dairy cows. II. Field trials. *J. Vet. Immunol. Immunopath.* (In press).



לכל מי שכותב ל'משק הבקר והחלב'

המערכת מודה לכל 'האוחזים בעט' (אולי מוטב לומר: כותבים בעזרת מחשב) על שיתוף הפעולה. לאחרונה יותר ויותר מאמרים ומחקרים בעלי הקף ניכר נשלחים אלינו גם בקבצים (דיסקט). בעוד העברת הקובץ באופן אלקטרוני שומר על עצם המלל ואופן הצגתו, הלא התמונות שרוצים לשלב במאמרים יש להעביר בקובץ נפרד מן המלל באחד מן הפורמטים הבאים:

tiff	קובץ
eps	או קובץ
jpg	או קובץ

כדי לשמור על איכות התמונה יש להעביר אותה ברזולוציה של בין 150-300 dpi ובנפרד מקובץ הוורד.