جستجوی گاومیش‌های حامل ویروس تب برفکی کشتار شده در کشتارگاه اهواز

آریا رسولی[۱]، مسعودرضا صیفی‌آبادشاپوری[۲]، محمدرحیم حاجی‌حاجیکلایی[۳] و امیر کمیلیان[۴]

تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱/۱۵

خلاصه

بیماری تب برفکی یکی از مهمترین بیماری‌های واگیردار حیوانات زوج سم است که می‌تواند خسارات اقتصادی شدیدی به همراه داشته باشد. یکی از جنبه‌های مهم بیماری تب برفکی عفونت پایدار است که ممکن است پس از بهبودی از شکل بالینی بیماری و یا به دنبال مواجهه نشخوارکنندگان واکسینه با ویروس زنده رخ دهد. به منظور بررسی عفونت پایدار با ویروس تب برفکی در گاومیش، مطالعه حاضر بر روی ۱۰۰ رأس گاومیش ماده بالغ کشتار شده در کشتارگاه شهرستان اهواز واقع در جنوب غرب ایران صورت پذیرفت. نمونه‌های حاصل از ترشحات حلقی و بافت مخاطی نرم کام پشتی گاومیش‌های ماده به روش RT-PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که از ۱۰۰ نمونه جمع‌آوری شده، ۲ نمونه (۲٪) از نظر وجود ژنوم تب برفکی و در نتیجه آلودگی به ویروس تب برفکی مثبت هستند. این مطالعه برای اولین بار در ایران وجود عفونت پایدار با ویروس تب برفکی در گاومیش‌ها را به اثبات رساند. از آنجا که گاومیش‌ها در تماس نزدیک با سایر دام‌های حساس نظیر گاو و گوسفند قرار دارند این امر می‌تواند خطر عمده‌ای در گسترش بیماری در منطقه محسوب شود.

کلمات کلیدی: تب برفکی، حامل، گاومیش، اهواز، ایران

مقدمه

بیماری تب برفکی از دیرباز کانون توجه ویروس شناسان، اپیدمیولوژیست‌ها ودامپزشکان بوده است. این بیماری از نظر بهداشت جمعیت‌های دامی، وارد آمدن خسارات سنگین اقتصادی در زمینه تولیدات دامی و همچنین هزینه هنگفت مبارزه و کنترل آن بسیار مهم می‌باشد. ویروس بیماری تب برفکی که عامل بیماری شدید وزیکولی در دام‌ها می‌باشد عضوی از جنس آفتوویروس و خانواده پیکورناویریده است (۸). در ایران برای اولین بار تیپ O ویروس در سال ۱۳۳۴، تیپ A در سال ۱۳۳۹ و تیپ Asia1 در سال ۱۳۴۲ جدا گردید و بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهند که تیپ‌های فوق از نقاط مختلف کشور جدا شده‌اند (۱). یکی از جنبه‌های مهم بیماری تب برفکی، عفونت پایدار می‌باشد که ممکن است پس از بهبودی از شکل بالینی بیماری و یا به دنبال مواجهه با ویروس زنده در نشخوارکنندگان واکسینه ایجاد شود (۱۴ و ۲۵). این حیوانات در اپیدمیولوژی تب برفکی اهمیت زیادی دارند، زیرا ممکن است ویروس تب برفکی را انتقال داده همه‌گیری جدیدی را موجب گردند (۲۳ و ۲۶). حامل به حیوانی اتلاق می‌شود که بتوان ۲۸ روز پس از عفونت، ویروس زنده را از آن جدا نمود (۱۱). طول مدت وضعیت حاملی به گونه حیوان و خصوصیات فردی بستگی دارد. گاو ممکن است برای مدتی بیش از ۳ سال، گوسفند برای ۹ ماه (۲۶)، بز و نشخوارکنندگان وحشی برای مدتی کوتاهتر حامل

[۱] دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز E-mail: rasooliaria2000@yahoo.com (نویسنده مسئول)

[۲] استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز

[۳] استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز

[۴] دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز

ویروس باشند و برای شترسانان آمریکای جنوبی وضعیت حامل وجود ندارد (۲۰). اکثر جمعیت‌های گاومیش آفریقایی در آفریقای جنوبی آلودگی بالایی با تیپ‌های SAT ویروس تب برفکی دارند (۱۳). در پارک ملی کروگر در آفریقای جنوبی میزان عفونت پایدار در گاومیش‌ها ۶۰ درصد می‌باشد (۱۹). برخی از گاومیش‌ها ممکن است عفونت را برای دوره‌هایی حداقل به مدت ۵ سال حفظ نمایند (۱۰) و برخی ممکن است با بیش از یک تیپ از ویروس تب برفکی در ناحیه حلق به عفونت پایدار مبتلا باشند (۱۹). حاملین، عفونت را به میزان بسیار ناچیز و فقط به دنبال تماس طولانی و نزدیک به هم گله‌ای‌ها و گونه‌های حساس دیگر منتقل می‌کنند (۵ و ۱۸). موارد بسیار اندکی از آلودگی به ویروس تب برفکی در گاومیش با علائم بالینی همراه بوده است. به نظر می‌رسد گاومیش‌ها در مقایسه با سایر زوج سمان نسبت به ویروس تب برفکی از مقاومت بیشتری برخوردار باشند (۲۹). در اپیدمی‌های به وقوع پیوسته در استان خوزستان نیز مواردی از ابتلاء بالینی گاومیش‌ها تشخیص داده شده است.

با توجه به عدم انجام واکسیناسیون منظم علیه تب برفکی در جمعیت‌های گاومیش در استان خوزستان و تماس مداوم این حیوان با سایر جمعیت‌های دامی نشخوارکننده، احتمالاً گاومیش می‌تواند در انتشار ویروس در میان جمعیت‌های دامی نقش داشته باشد. از آنجا که مطالعه‌ای در این رابطه در ایران صورت نگرفته است لذا مطالعه حاضر برای اولین بار فراوانی عفونت پایدار با ویروس تب برفکی در گاومیش‌های کشتار شده در کشتارگاه اهواز را مورد بررسی قرار داد.

مواد و روش کار

جمع‌آوری نمونه‌ها

این مطالعه بر روی ۱۰۰ رأس گاومیش ماده کشتار شده طی ماه‌های اردیبهشت، خرداد و تیر ۱۳۸۴ در کشتارگاه اهواز صورت پذیرفت. به دلیل مشاهده نشدن موارد بالینی بیماری در منطقه طی ۲ سال قبل از نمونه‌گیری، احتمال وجود حاملین در دام‌های جوان به شدت کاهش یافته لذا گاومیش‌های ماده‌ای که حداقل یک زوج دندان ثنایای دائمی داشتند انتخاب شده و پس از کشتار و قبل از نمونه‌برداری، جهت تعیین وضعیت ابتلاء به تب برفکی، محوطه دهانی بازرسی و در صورتی که فاقد جراحات تازه یا آثار بهبود یافته مربوط به تب برفکی بودند، نمونه‌برداری صورت پذیرفت. برای نمونه‌برداری، پس از ذبح دام دیواره مری با دو عدد پنس باز شده و با وارد نمودن قاشقک پلاستیکی مقداری از ترشحات حلق همراه با بافت مخاطی نرم کام پشتی برداشته و به یک میکروتیوب استریل منتقل گردید. کلیه نمونه‌ها در مجاورت یخ به آزمایشگاه ویروس‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران منتقل و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

انجام آزمایش RT-PCR

آزمایش RT-PCR با استفاده از پرایمرهای طراحی‌شده توسط Zhang و Kitching (۲۰۰۱) (۳۱) انجام پذیرفت (دستگاه PCR مدل Corbett Research، ساخت استرالیا). بدین منظور در ابتدا با استفاده از محلول تجاری استخراج RNA (ساخت پژوهشگاه ژنتیک ایران) و طبق دستورالعمل سازنده، RNA ژنومی از ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه (ترشحات حلق همراه با بافت مخاطی نرم کام پشتی) استخراج گردید. رسوب RNA به دست آمده از هر نمونه در ۱۱/۵ میکرولیتر آب تیمار شده با دی اتیل-پیروکربنات (Sigma ، ایالات متحده آمریکا) محلول گشت و برای ساخت cDNA طی فرایند رونوشت برداری معکوس، یک میکرولیتر (۵۰ پیکومول) پرایمر Reverse اختصاصی ناحیه غیرکدکننده ′۵ ژنوم (توالی پرایمر Reverse : CCAGTCCCCTTCTCAGATC) به آن اضافه شد. مخلوط RNA و پرایمر به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد، سپس به طور سریع روی یخ قرار گرفت. پس از گذشت ۵ دقیقه ۴

میکرولیتر بافر 5X واکنش رونوشت برداری معکوس (Fermentas ، لیتوانی)، ۲ میکرولیتر مخلوط نوکلئوتیدی ۱۰ میلی‌مولار (سیناژن، ایران) و ۰/۵ میکرولیتر (۲۰ واحد) مهارکننده ریبونوکلئاز (Fermentas ، لیتوانی) اضافه و میکروتیوب حاوی این مواد به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. در مرحله بعد با افزودن ۱ میکرولیتر (۲۰۰ واحد) آنزیم رونوشت برداری معکوس (Fermentas ، لیتوانی)، ساخت cDNA در طی یک ساعت در ۴۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد و با ۱۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری در ۷۰ درجه سانتی‌گراد پایان یافت. تکثیر cDNA ساخته شده با PCR نیز به شرح زیر انجام شد: ۵ میکرولیتر cDNA با ۵ میکرولیتر بافر 10X PCR (سیناژن، ایران)، ۱ میکرولیتر مخلوط نوکلئوتیدی ۱۰ میلی مولار، ۱/۵ میکرولیتر کلرید منیزیم ۵۰ میلی مولار، ۱ میکرولیتر (۵۰ پیکومول) از پرایمرهای اختصاصی ناحیه غیرکدکننده '5 ژنوم (توالی پرایمر Forward: CCTGGTCTTTCCAGGTCT و پرایمر Reverse همانند فوق) و ۰/۵ میکرولیتر (۲/۵ واحد) آنزیم DNA پلیمراز Taq (سیناژن، ایران) در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر مخلوط و تکثیر cDNA طی ۳۵ چرخه دمایی ۹۴ درجه ۱ دقیقه، ۵۵ درجه ۱ دقیقه و ۷۲ درجه ۱ دقیقه انجام شد. مراحل دمایی پیش و پس از تکثیر به ترتیب شامل ۹۴ درجه ۵ دقیقه و ۷۲ درجه ۵ دقیقه بود. در پایان محلول RT-PCR با طول قابل انتظار ۳۲۸ زوج باز در ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید با استفاده از دستگاه ترانس ایلومیناتور مورد مشاهده قرار گرفت.

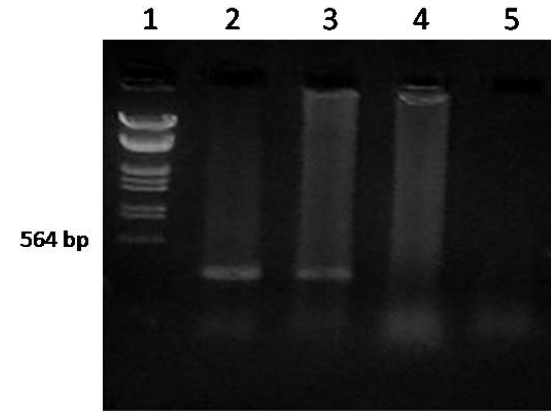
تعیین توالی محصول RT-PCR

محصول RT-PCR پس از الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵ درصد با استفاده از کیت استخراج DNA از ژل (شرکت کیاژن آلمان) خالص سازی شد و جهت تعیین توالی به شرکت ژن فناوران (ایران) ارسال شد. سپس توالی به دست آمده با استفاده از برنامه BLAST نسخه 2.2.26 (۳۲) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

در این مطالعه که برای نخستین بار در ایران صورت پذیرفت، ۱۰۰ نمونه از ترشحات حلقی و بافت مخاطی نرم کام پشتی گاومیش‌های ماده به روش RT-PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که ۲ نمونه (۲٪) از نظر وجود ژنوم ویروس تب برفکی و در نتیجه آلودگی به ویروس تب برفکی مثبت و ۹۸ نمونه (۹۸٪) منفی بودند (تصویر ۱). هر دو نمونه مثبت مربوط به گاومیش‌هایی بود که چهار زوج دندان ثنایای دائم داشتند. جهت اطمینان از ماهیت قطعات DNA تکثیر یافته در RT-PCR، یکی از محصولات پس از خالص‌سازی تعیین توالی شد. پس از بررسی توالی به دست آمده (Ahwaz/84) با برنامه Blast تعلق این قطعه به ژنوم ویروس تب برفکی مورد تأیید قرار گرفت.

بر اساس این بررسی از میان توالی‌های موجود ویروس تب برفکی در بانک ژن، توالی ناحیه '5 جدایه A/IRN/2005 بیشترین شباهت (۹۹٪) را با توالی به دست آمده در این مطالعه نشان داد. پس از جدایه A/IRN/2005، جدایه‌های پاکستانی A/Pak1/2006، A/Pak3/2006 و A/Pak5/2006 با شباهت ۹۸٪ بیشترین میزان قرابت را دارا بودند. همترازی این توالی‌ها که با استفاده ازبرنامه BioEdit نسخه 5.0.9 (۱۶) انجام گردید در تصویر ۲ نشان داده شده است.



تصویر ۱ : الکتروفورز محصولات RT-PCR در ژل آگارز. ستون ۱ نشان دهنده Ladder فاژ لاندا (ساخت شرکت سیناژن-ایران)، ستون‌های ۲ و ۳ حاوی دو نمونه مثبت در RT-PCR و ستون‌های ۴ و ۵ به ترتیب حاوی یک نمونه منفی در RT-PCR و کنترل منفی می‌باشند. کوچکترین قطعه قابل مشاهده Ladder با طول ۵۶۴bp در تصویر مشخص شده است.

```
Ahwaz/84     GCCTGGTCTT TCCAGGTCTA GAGGGGCGAC ACTTTGTACT GTGCTTGACT CCACGCTCGG
A/IRN/2005   .......... .......... .......... .......... .......... ..........
A/PAK1/2006  .......... .......... .......... .......... .......G.. ..........
A/PAK3/2006  .......... .......... .......... .......... .......G.. ..........
A/PAK5/2006  .......... .......... .......... .......... .......... ..........

Ahwaz/84     TCCACTAGCG AGTGTTAGTA GCAGCACTGT TGCTTCGTAG CGGAGCATGG TGGCCGTGGG
A/IRN/2005   .......... .......... .......... .......... .......... ..........
A/PAK1/2006  .......... .......... .......... .......... .......... ..........
A/PAK3/2006  .......... .......... .......... .......... .......... ..........
A/PAK5/2006  .......... .......... .......... .......... .......... ..........

Ahwaz/84     AACCCCTCCT TGGTAACAAG GACCCACGGG GCCGAAAGCC ACGTCCTAAC GGACCCACCA
A/IRN/2005   .......... .......... .......... .......... .......... ..........
A/PAK1/2006  .......... .......... .......... .......... .......... ..........
A/PAK3/2006  .......... .......... .......... .......... .......... ..........
A/PAK5/2006  .......... .......... .......... .......... .......... ..........

Ahwaz/84     TGTGTGCAAC CCCAGCACGG CAACTTTGCT GTGAAAACCA TTTTAAGGTG ACACTGATAC
A/IRN/2005   .......... .......... .......A.. .......... C......... ..........
A/PAK1/2006  .......... .......... .......A.. .......... C.......AA ..........
A/PAK3/2006  .......... .......... .......A.. .......... C.......AA ..........
A/PAK5/2006  .......G.. .......... .......A.. .......... C......... ..........

Ahwaz/84     TGGTACTCAA ACACTGGTGA CAGGCTAAGG ATGCCCTTCA GGTACCCCGA GGCAACAAGC
A/IRN/2005   .......... .......C.. .......... .......... .......... ..T.......
A/PAK1/2006  .......... .......... .......... .......... .......... ..T.......
A/PAK3/2006  .......... .......... .......... .......... .......... ..T.......
A/PAK5/2006  .......... .......... .......... .......... .......... ..T...G...

Ahwaz/84     GACACTCGGG ATCTGAGAAG GGGACTGG
A/IRN/2005   .......... .......... ........
A/PAK1/2006  .......... .......... ........
A/PAK3/2006  .......... .......... ........
A/PAK5/2006  .......... .......... ........
```

تصویر ۲: هم‌ترازی توالی یکی از محصولات RT-PCR (Ahwaz/84) با توالی مربوطه در جدایه‌های A/IRN/2005، A/PAK1/2006، A/PAK3/2006 و A/PAK5/2006 با استفاده از برنامه BioEdit.

بحث

تب برفکی مسری‌ترین بیماری زوج سمان است و توان بالقوه زیادی برای ایجاد خسارات شدید اقتصادی دارد. طبیعت فوق‌العاده مسری تب برفکی و همچنین عفونت پایدار از پیامدهای اصلی زیان‌بار برای تجارت بین‌المللی دام و فرآورده‌های دامی محسوب می‌گردند (۹).

روش مرسوم شناسایی نشخوارکنندگان حامل ویروس تب برفکی، جداسازی ویروس از نمونه مایع مری- حلقی بر روی کشت سلولی بوده است. این نمونه مخلوطی از موکوس و سلول‌های پوششی قسمت‌های قدامی مری و حلق می‌باشد که توسط فنجانک پروبنگ برداشت می‌گردد (۱۲ و ۲۰). کمیت حضور ویروس در حلق حیوانات حامل می‌تواند به طور قابل ملاحظه‌ای متفاوت باشد و جداسازی ویروس وابسته به زمان و سایر عوامل چون مهارت عامل نمونه‌گیری و روش نگهداری نمونه می‌باشد. احتمالاً تنها نیمی از حیوانات حامل توسط یک آزمایش پروبنگ شناسایی خواهند شد (۲۰).

برخی پژوهشگران برای شناسایی حاملین تب برفکی با استفاده از روش‌های تزاید اسید نوکلئیک مانند RT-PCR، ژنوم ویروس را در نمونه‌ها جستجو کرده‌اند (۷ و ۲۲). Murphy و همکاران (۱۹۹۴) نشان دادند که RT-PCR بسیار حساس‌تر از روش استاندارد جداسازی ویروس است و می‌تواند برای تشخیص سریع ویروس تب برفکی در بافت‌های گاوهای آلوده در دوره عفونت پایدار با ویروس مورد استفاده قرار گیرد (۲۲). Rossi و همکاران (۱۹۸۸) ژنوم ویروس تب برفکی را به وسیله آمیخته‌گری اسید نوکلئیک در نمونه‌های مایع مری- حلقی گاوهای حامل که در روزهای ۱۸۰ و ۵۶۰ پس از عفونت تجربی اخذ شده بود، شناسایی نمودند در حالی که جداسازی این ویروس توسط روش‌های رایج جداسازی امکان‌پذیر نبود (۲۴). در مطالعه قرشی و همکاران (۱۳۸۰) که بر روی نمونه‌های بافتی از موارد بالینی بیماری صورت پذیرفت، حساسیت روش RT-PCR بیش از روش‌های جداسازی ویروس، CFT و ELISA عنوان شد (۳). Donn و همکاران (۱۹۹۴) و Murphy و همکاران (۱۹۹۴) نرم کام پشتی را به عنوان بهترین بافت

برای حضور ویروس در عفونت پایدار تب برفکی در گاو معرفی نمودند (۱۲ و ۲۲). در مطالعه حاضر نیز از ترشحات حلق همراه با بافت مخاطی نرم کام پشتی برای شناسایی حاملین ویروس در عفونت پایدار استفاده شد و انجام آزمایش RT-PCR نشان داد که ۲ درصد از گاومیش‌های کشتار شده در کشتارگاه شهر اهواز از نظر وجود ژنوم تب برفکی و در نتیجه آلودگی به ویروس تب برفکی مثبت می‌باشند.

آزمایش Blast نشان داد که توالی به دست آمده در این مطالعه دارای شباهت بسیار زیادی با توالی جدایه A/IRN/2005 و توالی جدایه‌های پاکستانی A/Pak1/2006، A/Pak3/2006 و A/Pak5/2006 می‌باشد. بر اساس مطالعات به عمل آمده در آزمایشگاه مرجع جهانی تب برفکی جدایه A/IRN/2005 که در ترکیه جداسازی شده است تحت تیپ جدیدی از ویروس تب برفکی می‌باشد که از ایران منشاء گرفته و در طی سال‌های ۲۰۰۵ تا ۲۰۰۷ از ایران به سمت غرب به کشورهای دیگر منطقه مانند عربستان سعودی، ترکیه و حتی اردن انتشار یافته است. با این حال شباهت بسیار بالای این ویروس با جدایه‌های پاکستانی A/Pak1/2006، A/Pak3/2006 و A/Pak5/2006 نشان می‌دهد که یا انتشار ویروس به سمت شرق نیز رخ داده و یا آنکه اصولاً منشا اولیه ویروس کشورهای همسایه در شرق ایران بوده‌اند. بررسی ویژگی‌های ژنومی جدایه A/IRN/2005 حاکی از آن است که ناحیه کد کننده پروتئین‌های ساختمانی ویروس احتمالاً از منشاء سویه A22 تب برفکی است اما بروز و تثبیت جهش‌هایی در این منطقه موجب تمایز آن از سویه A22 می‌گردد. در مقابل ناحیه کد کننده پروتئین‌های غیر ساختمانی ویروس A/IRN/2005 ظاهراً در اثر نوترکیبی از ویروس Asia-1 منشاء گرفته است. با توجه به این یافته‌ها این فرضیه مطرح شده است که این ویروس نوترکیب احتمالاً به دنبال یک عفونت مخلوط با ویروس‌های A22 و Asia-1 و در اثر پدیده نوترکیبی به وجود آمده است. در این رابطه عقیده بر این است که این اتفاق احتمالاً در بدن گاومیش‌های آسیایی رخ داده است، زیرا این حیوانات تقریباً با سهولت با ویروس تب برفکی آلوده می‌شوند اما معمولاً علائم بالینی را بروز نمی دهند و در نتیجه پاسخ ایمنی آماسی حاد و قوی در مقابل سویه دوم ویروس شکل نمی‌گیرد (۲۱). نشان دادن حضور این ویروس در گاومیش‌های بدون علامت بیماری در این مطالعه و عدم وجود ویروس در گاوهایی که به طور همزمان در مطالعه‌ای موازی مورد بررسی قرار گرفتند (۲) می‌تواند تا حدی تایید کننده این فرضیه باشد. با این حال برای اثبات ارتباط ویروس‌شناسایی شده در این مطالعه با سویه A/IRN/2005 ضروری می‌بود تا مناطق ژنی بیشتری از این ویروس تعیین توالی گردند.

برای بررسی میزان وقوع عفونت پایدار با ویروس تب برفکی Sutmoller و همکاران (۲۰۰۲) فراوانی حامل‌های تب برفکی در گاومیش‌های کنیا را حدود ۱/۵ درصد گزارش کردند که با نتایج حاصل از بررسی حاضر هم‌خوانی دارد (۲۸). بهاری و همکاران (۱۳۸۳) آلودگی پایدار با ویروس تب برفکی در گاوهای کشتار شده در کشتارگاه زیاران را ۳۴/۵۹ درصد عنوان کردند (۶). اگر چه شناسایی حاملین ویروس تب برفکی در جمعیت دامی یک منطقه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است ولی بیشتر مطالعات انجام شده به دنبال عفونت تجربی با ویروس بوده است و یا اینکه پس از عفونت طبیعی با ویروس دام‌های بهبود یافته را از نظر عفونت پایدار تحت بررسی قرار داده‌اند. Hedger (۱۹۶۸) فراوانی جداسازی ویروس در گاوهای *بویس‌ایندیکوس* پس از عفونت طبیعی با سروتیپ SAT_3 را تا ۲۰ درصد گزارش نمود (۱۷). مطالعه انجام شده در ترکیه شیوع عفونت پایدار با ویروس تب برفکی در گاو و گوسفند را ۱۵ تا ۲۰ درصد نشان داده است (۱۵).

واکسیناسیون مؤثر حتی اگر به طور مستقیم نتواند از شکل‌گیری وضعیت حامل در حیوانات در معرض ویروس تب برفکی جلوگیری نماید، از طریق کاهش مقدار ویروس دفعی یا ترشحی آزاد شده در محیط و به

تبع آن کاهش موارد جدید بیماری، موجب کاهش فراوانی حیوانات حامل خواهد شد (۲۷ و ۳۰). در این ارتباط نشان داده شده است که وقتی حیوانات واکسینه با مقادیر به نسبت اندک ویروس تب برفکی انتشار یافته توسط اشیاء یا انسان مواجه شوند، احتمال بسیار کمی وجود دارد که به صورت حامل در آیند (۲۸). علاوه بر این، دوره حامل در این دام‌ها کوتاه‌تر و دفع ویروس توسط آنها نیز بسیار کم‌تر است (۲۷)، بنابراین خطر انتقال تب برفکی از حامل‌های واکسینه به طور قابل ملاحظه‌ای پایین و نزدیک به صفر است (۲۸). در خاورمیانه جمعیت گاوها هدف اصلی در واکسیناسیون پیش‌گیرانه می‌باشد و واکسیناسیون به عنوان ابزاری جهت جلوگیری از ضرر و زیان اقتصادی استفاده می‌شود تا روشی برای پیش‌گیری از گسترش آلودگی (۴). به رغم برنامه واکسیناسیون منظم گاوها در ایران با استفاده از ویروس غیر فعال، هنوز آمار مبتلایان به تب برفکی نگران کننده است. عدم توجه به اهمیت واکسیناسیون به ویژه در سیستم‌های پرورشی نیمه صنعتی و سنتی و تحت شرایط روستایی، عدم نظارت بر جا به جایی دام در داخل کشور و نیز قاچاق دام از مرزها که در این ارتباط وجود مرزهای خاکی طولانی با کشورهای هم‌جوار که معمولاً از نظر این بیماری در وضعیت نامناسبی هستند و نقش اپیدمیولوژیک گوسفند، بز و گاومیش در انتشار بیماری تب برفکی، می‌توانند از جمله عواملی باشند که در بالا بودن موارد شیوع تب برفکی در ایران نقش دارند.

در بررسی حاضر هر چند فراوانی حاملین ویروس تب برفکی در گاومیش‌های کشتار شده در کشتارگاه اهواز اندک به نظر می‌رسد ولی از آنجا که در استان خوزستان گاومیش‌های ماده معمولاً به مدت طولانی (حتی تا ۱۵ سال) نگه‌داری می‌شوند، در صورت حامل بودن می‌توانند طی دوره طولانی حیات خود، محیط و همچنین گاوها و گوسفندان را که در تماس مستقیم با گاومیش‌ها قرار دارند آلوده نمایند و بدین ترتیب در بروز همه‌گیری‌های جدید و به تبع آن افزایش جمعیت نشخوارکنندگان حامل نیز مؤثر باشند. با توجه به اینکه گاومیش‌ها تحت پوشش برنامه منظم واکسیناسیون قرار ندارند حتی با فرض اینکه کل جمعیت گاوها و گوسفندان استان به طور منظم علیه تب برفکی واکسینه شوند، وجود همین گاومیش‌های حامل که می‌توانند تا ۸۰ سال ویروس تب برفکی را در گله حفظ کنند (۲۰)، در پایداری ویروس در محیط نقش به سزایی دارند. از آنجا که وجود وضعیت حامل در گاومیش تنها در گاومیش‌های آفریقایی و آن هم فقط در مورد سروتیپ‌های آفریقایی ویروس تب برفکی به اثبات رسیده است (۲۰)، بنابراین مطالعه حاضر برای اولین بار نشان داد که وضعیت حامل در گاومیش‌های آبی ایران نیز وجود دارد.

منابع

۱- طالب‌شوشتری عبدالمحمد (۱۳۷۴). تب برفکی (FMD) و وضعیت آن در ایران، مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۲۹، صفحات ۸۵-۸۲.

۲- قانع محسن (۱۳۸۴). بررسی عفونت پایدار با ویروس تب برفکی در تعدادی از گاوهای کشتار شده در کشتارگاه اهواز با استفاده از روش RT-PCR ، پایان‌نامه دکترای عمومی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، شماره ۸۴۵۸۵۷۵. صفحات ۸۵-۸۴.

۳- قرشی سیدعلی، دلیری مرتضی، حاجیان ترانه، بانویی محمدمهدی و الوندی علیرضا (۱۳۸۰). تشخیص ویروس تب برفکی در نمونه‌های کلینیکی به روش RT-PCR، مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۵۳، صفحات ۱۵-۱۳ .

4- Aidaros H.A. (2002). Regional status and approaches to control and eradication of foot- and-mouth disease in the middle east and north Africa. Revue Scientifique et technique Office International des Epizooties, 21: 451- 458.

5- Anderson E.C., Doughty W.J., Anderson J. and Paling R. (1979). The pathogenesis of foot-and-mouth disease in the African buffalo (Syncerus caffer) and the role of this species in the epidemiology of the disease in Kenya. Journal of Comparative Pathology, 89: 541-549.

6- Bahari A., Taghipour-Bazargani T., Marquardt O., Ghorashi S.A. and Bokaie S. (2007). Application of nested-PCR for detection of foot-and-mouth disease viral sequences in tonsil of slaughtered cattle with clinically normal appearance in Iran. Veterinarski Arhiv, 77: 299-306.

7- Barnett P.V. and Carabin H. (2002). A review of emergency foot-and-mouth disease (FMD) vaccines. Journal of Virological Methods, 20: 1505-14.

8- Belsham G.J. (1993). Distinctive features of foot-and-mouth disease virus, a member of the picornavirus family: aspects of virus protein synthesis, protein processing and structure, Progress in Biophysics and Molecular Biology, 60: 241- 260.

9- Blancou J. (2002). History of control of foot-and-mouth disease. Comparative Immunology and Microbiology of Infectious Diseases, 25: 283-293.

10- Condy J.B., Hedger R.S., Hamblin C. and Barnett I.T.R. (1985). The duration of the foot-and-mouth disease virus carrier state in African buffalo: (i) in the individual animal and (ii) in a free-living herd. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 8: 257-265.

11- Donaldson A.I. (1987). Foot-and-mouth disease: the principal lectures. Irish Veterinary Journal, 41: 325- 327.

12- Donn A., Martin L.A. and Donaldson A.I. (1994). Improves detection of persistent foot-and-mouth disease infection in cattle by the polymerase chain reaction. Journal of Virological Methods, 49: 179-186.

13- Esterhuysen J.J., Thomson G.R., Flamand J.R.B. and Bengis R.G. (1985). Buffalo in the northern Natal game parks show no serological evidence of infection with foot-and-mouth disease virus. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 52: 63- 66.

14- Fenner F., Bachmann P.A., Gibbs E.P.J., Murphy F.A., Studdert M.J. and White D.O. (1993). Veterinary Virology, 2nd ed. Academic Press, INC, California, pp: 403- 416.

15- Gurhan S.I., Gurhan B., Osturkmen A., Aynagoz G., Candas A. and Kizil S. (1993). Establishment of the prevalence of persistently infected cattle and sheep in Anatolia with FMDV. Etlik Veterinar Microbiologii Dergisi, 7: 52-59.

16- Hall T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium, 41: 95-98.

17- Hedger R.S. (1968). The isolation and characterization of foot-and-mouth disease from clinically normal herds of cattle in Botswana. Journal of Hygiene, 66: 27-36.

18- Hedger R.S. (1970). Observations on the carrier state and related antibody titres during an outbreak of foot-and-mouth disease. Journal of Hygiene (cambridge), 68: 53- 60.

19- Hedger R.S. (1972). Foot-and-mouth disease and the African buffalo (Syncerus caffer). Journal of Comparative Pathology, 82: 19- 28.

20- Kitching R.P. (2002). Identification of foot-and-mouth disease virus carrier and subclinically infected animals and differentiation from vaccinated animals. Revue Scientifique et technique Office International des Epizooties, 21: 531- 538.

21- Klein J., Hussain M., Ahmad M., Normann P., Afzal M. and Alexanderson S. (2007). Genetic characterisation of the recent foot-and-mouth disease virus subtype A/IRN/2005. Virology Journal, 4: 122.

22- Murphy F.A., Gibbs E.P.J., Horzinek M.C. and Studdert M.J. (1994). Veterinary Virology, 3rd ed. Academic Press, London. Pp: 521- 528.

23- Radostits O.M. (2001). Herd Health, 3rd ed. W.B. Saunders Company, London, pp: 683-684.

24- Rossi M.S., Sadir A.M., Schudel A.A. and Palma F.L. (1988). Detection of foot-and-mouth disease virus with DNA probes in bovine esophageal-pharyngeal fluids. Archive of Virology, 99: 67-74.

25- Salt J.S. (1993). The carrier state in foot-and-mouth disease virus from Japanese Black cattle in Mivazaki prefecture, Japan, 2001. Journal of Veterinary and Medical Science, 64: 91- 94.

26- Salt J.S., Mulcahy G. and Kitching R.P. (1996). Isotype-specifi antibody response to foot-and-mouth disease virus in sera and secretions of carrier and non-carrier cattle. Epidemiology of Infections Diseases, 117: 349- 360.

27- Sutmoller P., Barteling S.S., Olascoaga R.S. and Sumptoin K.J. (2003). Control and eradication of foot-and-mouth disease. Virus Research, 91: 101- 144.

28- Sutmoller P. and Olascoaga R.C. (2002). Unapparent foot and mouth disease infection (sub-clinical infections and carries): implications for control. Revue Scientifique et technique Office International des Epizooties, 21: 519- 529.

29- Sutmoller P., Thomson G.R., Hargreaves S.K., Foggin C.M. and Anderson C.E. (2000). The foot-and-mouth disease risk posed by African buffalo within wildlife conservancies to the cattle industry of Zimbabwe, Preventive Veterinary Medicine, 44: 43-60.

30- Wooddbury E.L. (1995). A review of the possible mechanisms for the persistence of foot-and-mouth disease virus. Epidemiology of Infectious Diseases, 114: 1-13.

31- Zhang Z.D. and Kitching R.P. (2001). The localization of persistent foot-and-mouth disease virus in the epithelial cells of soft palate and pharynx. Journal of Comparative Pathology, 124: 89- 94.

32- Zhang Z., Schwartz S., Wagner L. and Miller W. (2000). A greedy algorithm for aligning DNA sequences, Journal of Computational Biology, 7(1-2): 203-214.