بررسی میزان آلودگی گوسفندان با هرپس ویروس گوسفندی تیپ ۲ (OvHV-2) در شهر اهواز با آزمایش PCR

مسعودرضا صیفی‌آبادشاپوری[۱*]، محمد رشنو[۲]، سیاوش منصوری[۳]، محمد صباغان[۴]، مجتبی حقی‌کرم‌اله[۵]، ماجده بلادی‌موسوی[۳] و رضا دهنوی‌زاده‌کازرونی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۱۸

چکیده

تب نزله‌ای بدخیم (Malignant Catarrhal Fever; MCF) یکی از مهم‌ترین بیماری‌های ویروسی در گاو و انواع دیگری از حیوانات می‌باشد. این بیماری در گاو توسط دو ویروس مختلف با نام های alcelaphineherpesvirus 1 (AlHV-1) و ovine herpesvirus 2 (OvHV-2) ایجاد می‌گردد. بر این اساس، MCF دارای دو شکل همه‌گیر وابسته به ویلدبیست یا گوزن یال دار (میزبان طبیعی AlHV-1) و وابسته به گوسفند (میزبان طبیعی OvHV-2) می‌باشد. این مطالعه جهت بررسی وضعیت آلودگی گوسفندان با OvHV-2 در شهر اهواز صورت گرفته است. به این منظور ۱۰۰ نمونه خون از گوسفندان حومه‌ی این شهر جمع‌آوری و آزمایش PCR شدند. در ابتدا، از هر یک از نمونه‌ها بافی‌کت تهیه شد و DNA بافی‌کت‌ها استخراج شد. سپس وجود OvHV-2 DNA در نمونه‌های تهیه شده با آزمایش Semi-nested PCR بررسی شد. بر اساس نتایج آزمایش PCR ۸۲ درصد از گوسفندان نمونه‌گیری شده حامل OvHV-2 DNA بودند. میزان آلودگی مشاهده شده در این مطالعه نسبت به برخی مطالعات پیشین کم‌تر بود. این اختلاف ممکن است ناشی از تفاوت‌های نژادی گوسفندان و یا تنوع ژنتیکی OvHV-2 باشد.

کلمات کلیدی: بیماری تب نزله‌ای بدخیم، OvHV-2، گوسفند، PCR، اهواز

مقدمه

تب نزله‌ای بدخیم (Malignant Catarrhal Fever; MCF) یک بیماری ویروسی تک‌گیر و در عین حال کشنده برای گاو و انواعی دیگر از حیوانات است که به وسیله‌ی دو ویروس از خانواده هرپس ویریده به نام‌های alcelaphineherpesvirus 1 (AlHV-1) و ovine herpesvirus 2 (OvHV-2) ایجاد می‌گردد. AlHV-1 و OvHV-2 هر دو در زیر خانواده *Gammaherpesvirinae* و جنس *Macavirus* قرار دارند (Davison et al. 2009, Jubb and Kennedy 2007). با توجه به عوامل ویروسی ایجاد کننده‌ی MCF ، تا کنون دو شکل همه‌گیر از بیماری تحت عنوان MCF وابسته به ویلدبیست (WA-MCF) و MCF وابسته به گوسفند (SA-MCF) با توزیع جغرافیایی مشخص توصیف گردیده است، در MCF وابسته به ویلدبیست عامل بیماری (AlHV-1) از ویلدبیست که نقش حامل پنهان آن را بر عهده دارد، انتقال می‌یابد. MCF وابسته به گوسفند که ناشی از OvHV-2 می‌باشد نخستین بار در اروپا مشاهده شده، اما در هر نقطه‌ای از جهان که گوسفند و گاو یا هر گونه‌ی حساس

[۱*] استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز E-mail: masoudrs@scu.ac.ir (نویسنده‌ی مسئول)

[۲] دانشجوی دکترای تخصصی میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهیدچمران اهواز

[۳] دانش‌آموخته دکتری حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

[۴] دانشجوی دکتری انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز

[۵] دانشجوی دکتری بیوشیمی بالینی، پردیس بین‌المللی دانشگاه علوم پزشکی شهیدصدوقی یزد

به MCF در کنار هم نگهداری می‌شوند، بروز می‌کند. MCF، هم‌چنین در گوزن شمالی پرورشی و بوفالوی آبی گزارش شده است. مخازن طبیعی ویروس (ویلدبیست و گوسفند) هیچ یک از علائم بالینی عفونت را نشان نمی‌دهند (Russell et al. 2009). راه اصلی انتقال AlHV-1، تماس با آئروسل‌های آلوده از گوساله‌های ویلدبیست است (Rodostis et al. 2000, Russell et al. 2009). راه انتقال OvHV-2 میان گوسفند و گاو نامشخص است، اما احتمالاً این انتقال از طریق تنفس یا از راه خوراکی است (Rodostis et al. 2000). به وسیله‌ی PCR حضور ویروس در شیر و آغوز میش‌های آلوده ردیابی شده است، اما اغلب بره‌ها تا پیش از ۲-۳ ماهگی آلوده نیستند (Li et al. 1995).

سازمان جهانی بهداشت، حیوانات هیستوپاتولوژی را به عنوان تست تشخیصی قطعی تعیین کرده است (OIE 2004). مجموعه‌ای از جراحات میکروسکوپی شامل تورم عروق و بافت اطراف عروق به صورت بسیار وسیع و منتشر، تزاید بافت لنفورتیکولار در طحال و غدد لنفاوی و نفوذ سلول‌های تک هسته‌ای در کلیه‌ها، کبد، غده‌ی فوق کلیوی، CNS، عضله‌ی قلب، ریه‌ها و اندام‌های دیگر به عنوان نشانه‌ای مشخص از بیماری MCF می‌باشند (صیفی‌آبادشاپوری ۱۳۸۲، Jubb and Kennedy 2007, Rodostis et al. 2000).

Ovine Herpesvirus-2 تا کنون در کشت سلولی تکثیر داده نشده است، اما حضور این ویروس با استفاده از PCR مشخص شده است و با استفاده از این روش می‌توان DNA ویروس را در بافت‌های بسیاری از حیوانات بیمار یا در خون گوسفندان ردیابی نمود (James and Dubovi 2011). تا کنون میزان آلودگی گوسفندان به ویروس OvHV-2 تنها در استان چهار محال بختیاری بررسی شده است و در خصوص وضعیت آلودگی گوسفندان در سایر مناطق ایران از جمله خوزستان اطلاعاتی وجود ندارد (Momtaz et al. 2009). بنابراین، هدف از این مطالعه ردیابی ژنوم OvHV-2 در گوسفندان حومه‌ی شهر اهواز با استفاده از تکنیک Semi Nested PCR بوده است.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری

از تعداد ۱۰۰ رأس میش با سن بالاتر از دو سال در حومه‌ی شهر اهواز نمونه‌گیری به عمل آمد. خون‌گیری با استفاده از لوله‌های خلأدار (ونوجکت) انجام گرفت و پس از اضافه کردن سیترات سدیم ۴ درصد، نمونه‌های خون به آزمایشگاه ویروس‌شناسی دانشکده‌ی دامپزشکی منتقل گردید. در آزمایشگاه، پس از سانتریفوژ با دور ۲۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه، بافی‌کوت با استفاده از پیپت پاستور استریل جدا گردید.

استخراج DNA

استخراج DNA از نمونه‌های بافی‌کت با استفاده از یک کیت تجاری استخراج DNA به نام Accuprep Genomic محصول شرکت بایونیر[1] کره جنوبی انجام گردید. بررسی کیفیت DNA استخراج شده با الکتروفورز DNA در ژل آگارز ۱ درصد و انجام آزمایش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن کدکننده RNA ریبوزومال 18S صورت گرفت. جهت انجام آزمایش PCR، ۵ میکرولیتر DNA استخراج شده با ۵ میکرولیتر بافر PCR 10X (سیناژن، ایران)، ۱ میکرولیتر مخلوط نوکلئوتیدی ۱۰ میلی‌مولار، ۱/۵ میکرولیتر کلرید منیزیم ۵۰ میلی مولار، ۰/۵ میکرولیتر (۵۰ پیکومول) از هر یک از پرایمرهای اختصاصی ژن RNA ریبوزومال 18S (18SU: TCAAGAACGAAAGTCGGAGG و 18SD: GGACATCTAAGGGCATCACA) و ۰/۵ میکرولیتر (۲/۵ واحد) آنزیم DNA پلیمراز Taq (سیناژن، ایران) در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر مخلوط شد و تکثیر طی ۳۰

1- Bioneer

چرخه‌ی دمایی ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد ۱ دقیقه، ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد ۱ دقیقه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد ۱ دقیقه انجام شد. مراحل دمایی پیش و پس از تکثیر به ترتیب شامل ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد ۳ دقیقه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد ۱۰ دقیقه بود. پرایمرهای 18SU و 18SD قادر به تکثیر یک قطعه‌ی DNA با طول ۴۸۸ زوج باز از ژن کد کننده‌ی RNA ریبوزومی 18S بسیاری از پستانداران از جمله گوسفند می‌باشند.

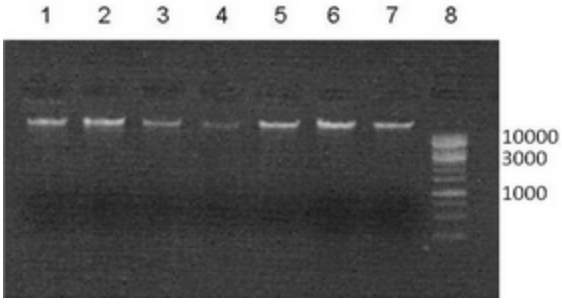
آزمایش PCR جهت ردیابی DNA ویروس OvHV-2

پس از استخراج DNA و تعیین کیفیت آن، یک PCR دو مرحله‌ای با استفاده از مجموعه پرایمرهای اختصاصی ORF75 ویروس AlHV-1، انجام شد (Baxter et al. 1993, Li et al. 1995). در واکنش اول PCR، حدود ۱۰ میکرولیتر از DNA استخراج شده به مخلوط PCR، حاوی ۲/۵ واحد آنزیم DNA پلیمراز Taq، ۵ میکرولیتر از بافر PCR 10X (سیناژن، ایران)، ۱/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم، ۰/۲ میلی‌مولار از مخلوط نوکلئوتیدی ۱۰ میلی‌مولار و ۲۰ پیکو مول از پرایمرهای 556 (AGTCTGGGGTATATGAATCCAGATGGCTCTC) و 775 (AAGATAAGCACCAGTTATGCATCTGATAAA) اضافه گردید. حجم محلول به دست آمده با استفاده از آب مقطر استریل دو بار تقطیر شده به ۵۰ میکرولیتر رسانده شد. برنامه‌ی PCR شامل ۳۵ سیکل حرارتی ۹۴ درجه‌ی سانتی-گراد به مدت ۱ دقیقه، ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه بود. هم-چنین یک مرحله حرارت ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه قبل و یک مرحله حرارت ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه بعد از خاتمه ۳۵ سیکل منظور گردید، سپس محصول واکنش اول PCR در واکنش دوم PCR (semi nested PCR) به عنوان نمونه مورد استفاده قرار گرفت. در واکنش دوم PCR، پرایمر 556 همراه با پرایمر 555 (TTCTGGGGTAGTGGCGAGCGAAGGCTTC) استفاده شدند. بنابراین ۱ میکرولیتر از محصول واکنش اول PCR به ۴۹ میکرولیتر مخلوط PCR مشابه آنچه در مرحله‌ی اول PCR ذکر شد، افزوده گردید. برنامه‌ی حرارتی PCR دوم مشابه PCR اول بود. در خاتمه، محصولات به دست آمده از PCR دوم روی ژل آگاروز ۲ درصد و حاوی رنگ اتیدیم بروماید الکتروفورز شد و تحت تابش UV توسط دستگاه UV Transilluminator مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این آزمایش از DNA استخراج شده از خون یک گاو مبتلا به MCF به عنوان شاهد مثبت و از آب مقطر به عنوان شاهد منفی استفاده شد.

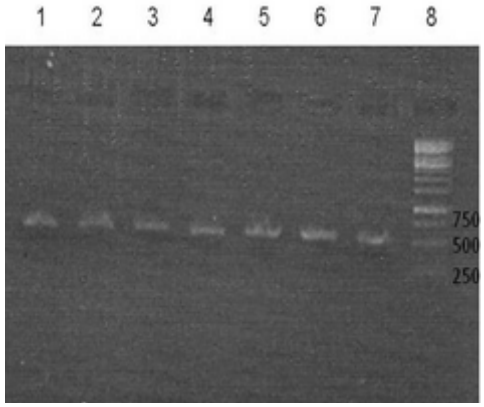
نتایج

استخراج DNA

الکتروفورز DNA استخراج شده از تعدادی از نمونه‌های خون در ژل آگارز در شکل ۱ نشان داده شده است. وجود یک باند DNA با طول بسیار زیاد که در مقابل یک DNA Ladder 1kb الکتروفورز شده است، نشان‌دهنده‌ی کیفیت مطلوب DNA استخراج شده از نمونه‌های خون بود . هم‌چنین آزمایش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن کدکننده‌ی RNA ریبوزومی 18S (شکل ۲) نشان داد که استخراج DNA از نمونه‌های خون با موفقیت انجام شده بود.



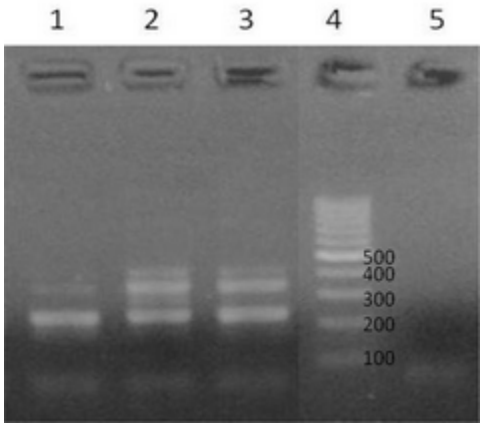
شکل ۱: الکتروفورز چند نمونه از DNA های استخراج شده (ستون‌های ۱ تا ۷) در کنار یک DNA Ladder 1kb (ساخت شرکت فرمنتاز) در ژل آگارز ۱ درصد . طول قطعات DNA Ladder بر حسب bp در مقابل برخی قطعات مشخص شده است.



شکل ۲ : نتایج PCR روی تعدادی از نمونه‌های DNA استخراج شده با استفاده از پرایمرهای ژن کد کننده‌ی RNA ریبوزومی 18S (ستون‌های ۱ تا ۷) در کنار یک DNA Ladder 1kb (ساخت شرکت فرمنتاز) در ژل آگارز ۱/۵ درصد. طول قطعات DNA Ladder بر حسب bp در مقابل برخی قطعات مشخص شده است.

نتایج آزمایش PCR جهت ردیابی DNA ویروس OvHV-2

پس از انجام PCR اول با استفاده از پرایمرهای 556 و 775 و متعاقباً انجام PCR دوم (Semi-nested PCR) با استفاده از پرایمر 556 همراه با پرایمر 555، از مجموع ۱۰۰ نمونه خون مورد آزمایش، حضور ژنوم OvHV-2 در ۸۲ نمونه (۸۲ درصد) نشان داده شد. الکتروفورز تعدادی از نمونه‌های مثبت در شکل ۳ نشان داده شده است. تولید یک قطعه DNA با طول ۲۳۸ زوج باز در آزمایش PCR دوم به عنوان مثبت بودن حضور ژنوم در نمونه محسوب شد، اما با توجه به وجود چندین جایگاه احتمالی دیگر برای اتصال پرایمرها، غالباً علاوه بر باند DNA ۲۳۸ زوج بازی، باندهایی با طول ۳۴۰ و ۴۲۰ زوج باز که قبلاً نیز گزارش شده‌اند (Baxter et al. 1993, Li et al. 1995) مشاهده می‌شدند.



شکل ۳: نتایج الکتروفورز آزمایش PCR جهت ردیابی DNA ویروس OvHV-2. محصول PCR دو نمونه DNA استخراج شده از خون گوسفندان در ستون‌های ۱ و ۲ و محصول PCR شاهدهای مثبت و منفی به ترتیب در ستون‌های ۳ و ۵ نشان داده شده است. ستون ۴ حاوی DNA Ladder 100bp می‌باشد. طول قطعات DNA Ladder بر حسب bp در مقابل برخی قطعات مشخص شده است.

بحث

MCF بیماری بسیار پیچیده‌ای است که اطلاعات در خصوص عامل، فرایند همه‌گیری و ساز و کار ایجاد آن هنوز کامل نیست. در این خصوص به ویژه در مورد MCF وابسته به گوسفند اطلاعات بسیار کم‌تری نسبت به MCF وابسته به ویلدبیست وجود دارد. مطالعات مختلف روی میزان شیوع یا مکانیسم انتقال این ویروس تنها با استفاده از آزمایش‌های ملکولی ردیابی DNA ویروس انجام شده است . در واقع، علی‌رغم این که ویروس گوسفندی تا کنون جداسازی نشده است، برای ردیابی این ویروس در سطح بین‌المللی آزمایش PCR مورد پذیرش قرار گرفته است (Baxter et al. 1993).

در تحقیقات صورت گرفته با آزمایش PCR، میزان شیوع آلودگی در داخل گله‌های گوسفند بسیار زیاد و غالباً نزدیک به ۱۰۰ بوده است (Li et al. 1995, Momtaz et al. 2009, Yeşilbağ 2007)، با این حال در مطالعه‌ای در فلسطین اشغالی میزان آلودگی در گله‌های مختلف گوسفند از ۷۰ تا ۹۵ درصد، متغیر بوده است (Brenner

and David 2005). با توجه به شیوع فراوان آلودگی در گله‌های گوسفند و در مقابل موارد به ظاهر اندک بیماری در گاو می‌توان انتظار داشت که علت این مسئله در ارتباط با دشواری در انتقال ویروس از گوسفند به گاو، عدم حساسیت گاو به بیماری و یا عدم تشخیص مواردی از بیماری باشد که در آن‌ها روند معمول بیماری بروز نمی‌کند. در واقع با توجه به مولتی سیستمیک بودن عفونت، با مشاهده هر نوع بیماری در گله‌های گاو که دارای سابقه‌ی بیماری MCF باشند، باید به این بیماری نیز توجه داشت. برای مثال در این خصوص می‌توان به مواردی از بیماری اشاره نمود که تنها با تظاهرات پوستی و یا علائم عصبی همراه بوده‌اند (Brenner and David 2005).

Li و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۱۹۹۸ به منظور پی بردن به زمان آلودگی گوسفندان نشان دادند که بره‌هایی که در ۲/۵ ماهگی از شیر گرفته شده بودند و جدا نگهداری شدند تا ۱ سالگی آلودگی نداشتند. در مقابل بره‌هایی که در ۲/۵ ماهگی از شیر گرفته شده بودند، اما در گله باقی ماندند در ۳/۵ ماهگی آلوده شدند. هم‌چنین مشخص گردید که از شیرگیری و جدا کردن بره‌ها در ۳/۵ ماهگی مانع از آلودگی آن‌ها نمی‌شود. به طور کلی این مطالعه نشان داد که آلودگی با ویروس در ابتدای پس از تولد صورت نمی‌گیرد و لذا با مدیریت صحیح می‌توان به پرورش حیوانات عاری از ویروس اقدام نمود.

Li در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۰۱ نشان داد که اکثر بره‌های آلوده بعد از ۳ ماهگی تنها حاوی اسید نوکلئیک ویروس در خون محیطی بودند لذا به نظر می‌رسد که الزاماً بره‌های نوزاد منبع مهم انتقال آلودگی محسوب نمی‌شوند.

Hussy و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که میزان معنی‌داری از اسید نوکلئیک ویروس در منی قوچ‌ها وجود دارد و بدین ترتیب احتمال انتقال ویروس در بین گوسفندان از طریق جنسی مطرح گردید، اما این واقعیت که اکثر بره‌ها قبل از بلوغ جنسی آلوده می‌شوند نشان می‌دهد که انتقال جنسی راه مهمی برای حفظ ویروس در جمعیت گوسفند نیست (Li et al. 2004).

هدف اولیه‌ی مطالعه‌ی حاضر پی بردن به وجود ویروس OvHV-2 در شهر اهواز بود. نتایج به دست آمده به خوبی نشان می‌دهد که ویروس OvHV-2 در جمعیت گوسفندی منطقه بسیار شیوع دارد و موارد بیماری MCF گاو در این منطقه به احتمال بسیار زیاد ناشی از این ویروس است. شیوع OvHV-2 در این منطقه ۸۲ درصد تعیین گردید. اگرچه این میزان شیوع زیاد است، ولی بر خلاف برخی مطالعات پیشین، این شیوع ۱۰۰ درصد نیست. تفاوت در میزان شیوع احتمالاً ممکن است ناشی از عللی مانند تفاوت‌های ژنتیکی در میان سویه‌های OvHV-2 در مناطق مختلف و یا حتی ناشی از تفاوت‌های نژادی گوسفندان باشد. تفاوت‌های ژنتیکی که در بر گیرنده‌ی مناطق اتصال پرایمر باشند، می‌توانند منجر به نتایج منفی کاذب گردند. در تأیید این فرضیه می‌توان به این یافته اشاره نمود که در برخی موارد بیماری MCF در آمریکا و استرالیا، پرایمرهای طراحی شده برای سویه‌ی گوسفندی ویروس قادر به شناسایی ویروس عامل بیماری نبوده‌اند. اگرچه محققین این مسئله را به احتمال وجود ویروس دیگری غیر از OvHV-2 در خارج از آفریقا نسبت داده‌اند (Li et al. 1995)، اما تفاوت‌های احتمالی ژنتیکی نیز ممکن است در این زمینه نقش داشته باشند. برای پاسخ قطعی به این پرسش و درک بهتر از ماهیت عامل بیماری MCF پیشنهاد می‌گردد که در مطالعات آینده، ویروس عامل بیماری در موارد MCF در گاو نیز بررسی شود و خصوصیات ژنتیکی آن مشخص گردد.

تفاوت نژادی گاو در حساسیت به بیماری MCF وابسته به گوسفند به خوبی ثابت شده است. به طوری که گاو نژاد بالی (Bos Javanicus) نسبت به OvHV-2 بسیار حساس‌تر از نژادهای BosTaurus می‌باشد، اما به نظر می‌رسد که تا کنون مطالعه‌ای در خصوص حساسیت نژادی گوسفندان انجام نشده باشد. بنابراین پیشنهاد

می‌گردد که میزان آلودگی جمعیت‌های گوسفند با OvHV-2 در نژادهای مختلف نیز بررسی گردد.

Yeşilbağ در سال ۲۰۰۷ شیوع عفونت‌های گاما هرپس ویروسی در جمعیت گوسفند، بز و گاو در ترکیه را با آزمایش سرولوژیک بررسی کرد. در توافق با آزمایش‌های مولکولی در سایر مطالعات که شیوع آلودگی در گوسفند را بسیار بالا نشان داده بودند، در این مطالعه نیز میزان آلودگی در گوسفندان ۹۷/۵ درصد بر آورد شد. در تحقیق ایشان هم‌چنین نشان داده شد که شیوع آلودگی در جمعیت بزها ۹۶ و در گاوها ۱۵ درصد بوده است. شیوع فراوان آلودگی در میان بزها نشان می‌دهد که در مطالعه روی MCF به جمعیت این گونه حیوانی و گاماهرپس ویروس مهم آن یعنی CapHV-2 نیز باید توجه داشت. به طور کلی برای درک بهتر بیماری MCF وابسته به گوسفند ضروری است که بخش‌هایی از ژنوم ویروس عامل بیماری در گاو و نیز ویروس‌های OvHV-2 و CapHV-2 در هر منطقه تعیین توالی شود و از نظر خصوصیات ژنتیکی و فیلوژنتیکی مقایسه شوند.

منابع

صیفی‌آبادشاپوری، مسعودرضا (۱۳۸۲). تب نزله‌ای بدخیم. تشخیص بیماری‌های ویروسی در دامپزشکی. انتشارات دانشگاه شهید چمران. ۲۹۶-۳۰۵ :۲۸۳.

Baxter, S.I.F.; Pow, I.; Bridgen, A. and Reid, H.W. (1993). PCR detection of the sheep-associated agent of malignant catarrhal fever. Archive of Virology,132:145-159.

Brenner, J.; David, D. Sheep-associated malignant catarrhal fever in cattle (SA-MCF). (2005). Recent clinical and epidemiological aspects in Israel. Israel Journal of Veterinary Medicine, 60: 19-22.

Davison, A.J.; Eberle, R.; Ehlers, B.; Hayward, G.S.; McGeoch, D.J.; Minson A.C. et al. (2009). The order Herpesvirales. Archives of Virology, 154: 171–177.

Hussy, D.; Janett, F.; Albini, S.; Stauber, N.; Thun, R. and Ackermann, M. (2002). Analysis of the pathogenetic basis for shedding and transmission of ovine gamma herpesvirus 2. Journal of Clinical Microbiology, 40:4700–4704.

James, N. and Dubovi, E.J. (2011). Herpesvirales. Fenner's Veterinary Virology. 4th ed. Academic Press. Amesterdam, pp: 196-198.

Jubb, K.V.F. and Kennedy, P.C. (2007). Alimentary system. Pathology of Domestic Animals.Vol.1. 5th ed. Saunders. Philadelphia, pp: 152-158.

Li, H.; Shen, D.T.; O'Toole, D.; Knowles, D.P.; Gorham, J.R. and Crawford, T.B. (1995). Investigation of sheep-associated malignant catarrhal fever virus infection in ruminants by PCR and competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. Journal of Clinical Microbiology, 33: 2048–2053.

Li, H.; Snowder, G.; O'Toole, D. and Crawford, T.B. (1998). Transmission of ovine herpesvirus 2 in lambs. Journal of Clinical Microbiology, 36:223–226.

Li, H.; Taus, N.S.; Lewis, G.S.; Kim, O.J.; Traul, D.L. and Crawford, T.B. (2004). Shedding of ovine herpesvirus 2 in sheep nasal secretions: the predominant mode for transmission. Journal of Clinical Microbiology, 42: 5558–5564.

Li, H.; Hua, Y.; Snowder, G. and Crawford, T.B. (2001). Levels of ovine herpesvirus 2 DNA in nasal secretions and blood of sheep: implications for transmission. Veterinary Microbiology, 79: 301–310.

Momtaz, H.; Hemmatzade, F.; keyvanfar, H. and Abbasian, B. (2009). PCR for detection of Ovine Herpesvirus-2 in cow and sheep of Iran. Research Journal of Biological Sciences, 4 (5): 558-561.

OIE, (2004). Malignant catarrhal fever. In: OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animal, fifth edition, France, pp: 570-579.

Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Blood, D.C. and Hinchcliff, K.W. (2000). Veterinary Medicine. 9th ed. Saunders. London, pp: 1245-1248.

Russell, G.C.; Stewart, J.P. and Haig, D.M. (2009). Malignant catarrhal fever: A review. Veterinary Journal, 179:324-335.

Yeşilbağ, K. (2007). Seroprevalence of malignant catarrhal fever-related gammaherpesviruses in domestic ruminants in Turkey. Tropical Animal Health and Production, 39: 363–368.

A survey of Ovine Herpesvirus-2 (OvHV-2) infection among Ahvaz sheep population by PCR

Seyfi Abad Shapouri, M.R.[1]; Rashno, M.[2]; Mansouri, S.[3]; Sabbaghan, M.[4]; Haghghi Karamollah, M.[5]; Beladi Moosavi, M.[3] and Dehnavizadeh Kazerouni, R.[3]

Received: 19.12.2012 Accepted: 08.05.2013

Abstract

Malignant catarrhal fever (MCF) is one of the most important viral diseases of cattle and some other animal species. MCF in cattle is due to infection by two viruses: alcelaphineherpesvirus-1 (AlHV-1) and ovine herpesvirus-2 (OvHV-2). Epidemiologically, MCF in cattle is associated with wildebeests (natural host of AlHV-1) or sheep (natural host of OvHV-2). The aim of this study was to investigate the OvHV-2 infection in the sheep population of Ahvaz. Therefore, 100 whole blood samples were collected from sheep of the region and tested by PCR. Initially buffy coats were separated from the blood samples and subjected to DNA extraction. Thereafter, the presence of OvHV-2 DNA in the samples was assessed by a semi-nested PCR. The results indicated that 82% of the sampled sheep were carrier of OvHV-2 DNA. Infection rate observed in this study was lower than in some previous studies. This difference could be due to breed differences of sheep or genetic diversity of OvHV-2.

Key words: Malignant Catarrhal Fever, OvHV-2, Sheep, PCR, Ahvaz

1- Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
2- PhD student of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
3- DVM Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
4- PhD student of Parasitology, Faculty of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Iran
5- PhD student of Clinical Biochemistry, International Campus of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Iran
Corresponding Author: Seyfi Abad Shapouri, M.R., E-mail: masoudrs@scu.ac.ir