

شیوع سرمی آلودگی به ویروس اسهال ویروسی گاو (BVDV) در گوسفندان استان خوزستان

کوروش برجسته^۱، محمدرحیم حاجی حاجیکلایی^{۲*}، مسعودرضا صیفی آبادشاپوری^۳،
مهدی پورمهدی بروجنی^۴، محمد نوری^۵ و مریم داغری^۶

تاریخ دریافت: ۹۷/۳/۲۴

تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۳

چکیده

این مطالعه‌ی سرولوژیکی به منظور تعیین فراوانی آلودگی گوسفندان استان خوزستان به ویروس اسهال ویروسی گاو (BVDV) صورت گرفت. بدین منظور نمونه‌ی خون از ۳۱۸ رأس گوسفند متعلق به ۵ شهر اهواز اخذ گردید. گوسفندان به ۲ گروه ماده و نر و ۴ گروه سنی ۱، ۲، ۳ و ≥ 4 سال تقسیم شدند. از آزمون خنثی‌سازی سرم و با استفاده از ویروس NADL، سویه‌ی سیتوپاتیک و ژنوتیپ BVDV-1 برای جستجوی پادتن ضد ویروس BVDV استفاده شده است. نتایج نشان داد (۴۱/۲ درصد) رأس از گوسفندان تحت مطالعه دارای پادتن ضد ویروس BVDV می‌باشند. فراوانی آلودگی در دو جنس ماده و نر به ترتیب ۴۰/۸ درصد و ۵۵/۲ درصد و در چهار گروه سنی به ترتیب ۳۶/۵ درصد، ۳۱/۴ درصد، ۴۴ درصد و ۴۷/۱ درصد بود. بهبهان و باغملک به ترتیب با ۷۰/۲ درصد و ۲۶ درصد بیشترین و کمترین میزان آلودگی را به خود اختصاص دادند. تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین سن و جنس با آلودگی وجود ندارد در حالی که این اختلاف در بین شهرهای مختلف معنی‌دار بود. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که آلودگی به BVDV در گوسفندان استان خوزستان اندمیک بوده و برای کنترل و ریشه‌کنی BVDV در گاوها باید آلودگی گوسفندان و انتقال آن‌ها به گاو مورد توجه قرار گیرد.

کلمات کلیدی: ویروس اسهال ویروسی گاو، شیوع سرمی، آلودگی، گوسفند، خوزستان

مقدمه

گرفته است (Constable et al. 2017, Krametter-) و (Froetscher et al. 2010). ویروس اسهال ویروسی گاو (BVDV) نیز شامل ژنوتیپ‌های BVDV-1 و BVDV-2 می‌باشد که از این میان دوازده تحت ژنوتیپ مربوط به BVDV-1 (BVDV1a-BVDV1L) و دو تحت ژنوتیپ BVDV-2 (BVDV2a, BVDV2b) مشخص گردیده‌اند. دارای دو سویه‌ی سیتوپاتیک (CP) و غیر

جنس پستی ویروس (Pestivirus) متعلق به خانواده‌ی فلاوی‌ویریده (Flaviviridae) می‌باشد. در این جنس سه گونه ویروس وجود دارند که عبارتند از ویروس اسهال ویروسی گاو (BVDV)، ویروس تب کلاسیک خوک (Classical swine Fever virus) و ویروس بیماری مرزی (Border disease virus, BDV). اخیراً یک گونه از زرافه جدا گردیده که به طور موقتی در این جنس قرار

^۱ دانش‌آموخته دکتری تخصصی بیماری‌های داخلی دام‌های بزرگ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

^{۲*} استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
(نویسنده‌ی مسئول) E-mail: mhajih@scu.ac.ir

^۳ استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

^۴ دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

^۵ استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

^۶ کارشناس گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

بالینی بیماری مرزی (BD) در گوسفند شامل عقیم شدن میش‌ها، مرده‌زایی، تولد بره‌های ضعیف و بدشکلی‌های اسکلتی می‌باشد. بیماری بالینی به علت پستی‌ویروس‌ها در بز به ندرت گزارش شده است و عمده نشانه‌ها سقط و تولد بزغاله‌های با قدرت حیات کم می‌باشد (Krametter-Froetscher et al. 2010). تحقیقات بسیار در طی سال‌های گذشته، برخی از جزئیات پستی‌ویروس‌ها را روشن ساخته‌اند، با این حال، هنوز در رابطه با تنوع حدت و گرایش بافتی در میان ژنوتیپ‌ها، بیوتیپ‌ها و مکانیسم بیماری‌زایی و انتقال بین گونه‌ای پرسش‌های بسیار باقی مانده است. Cranwell و همکاران در سال ۲۰۰۷ در انگلستان و لوز در سه رأس گاو، ویروس بیماری مرزی را شناسایی کردند. گرچه از عفونت پایدار مادرزادی (PI) در یکی از نمونه‌ها مطمئن بودند ولی منشاء آلودگی به ویروس مشخص نبود. نشان داده شد گوسفندانی که به طور طبیعی با BDV آلوده می‌شوند ممکن است نقش مهمی را به عنوان یک منشاء عفونت برای گوساله‌ها بازی کنند، اما در شرایط مزرعه انتقال BDV از نشخوارکنندگان کوچک به گاو نسبتاً غیر معمول است (Krametter-Froetscher et al. 2010). انتقال BVDV از گاو به گوسفند و بالعکس آن توسط Paton و همکاران در سال ۱۹۹۷ توصیف شده است. نتایج تحقیقات Krametter و همکاران در سال‌های ۲۰۰۷ و ۲۰۰۸ نشان می‌دهد گاو نقشی کلیدی در انتشار پستی‌ویروس‌ها در میان جمعیت‌های گوسفند و بز اتریش دارد.

با توجه به اهمیت وافر BVD در صنعت پرورش گاو اکثر مطالعات به سمت تعیین شیوع سرمی BVDV در گاو معطوف شده است. با این حال، یکی از راه‌های انتقال عفونت به گاو از طریق تماس با گوسفند و بز آلوده به این ویروس می‌باشد و در واقع ویروس BVD دارای چرخه‌ی تعادل بین نشخوارکنندگان کوچک و بزرگ است (Constable et al. 2017). بنابراین، تعیین شیوع سرمی آلودگی به پستی‌ویروس‌ها در گوسفند و بز و تعیین روشی مناسب برای مشخص نمودن آلودگی در گوسفند و

سیتوپاتیک (NCP) می‌باشند (Constable et al. 2017). آنالیزهای فیلوژنیک نشان داده‌اند که ویروس بیماری مرزی (BDV) دارای ۷ تحت تیپ مختلف شامل BDV-1 تا BDV-7 می‌باشد (Constable et al. 2017). پستی-ویروس‌ها می‌توانند از سد میزبان خود بگذرند و طیف گسترده‌ای از زوج سم‌ها را آلوده نمایند. تکنیک‌های مولکولی نشان داده‌اند که BVDV و BDV بین گاو و نشخوارکنندگان کوچک در گردش‌اند (Krametter-Froetscher et al. 2010). BVDV پاتورنی است که می‌تواند دستگاه‌های مختلف بدن مثل، تولید مثل، تنفس، گردش خون، عصبی، ایمنی و جلدی را تحت تأثیر قرار دهد. خسارات تولید مثلی و بیماری‌های دستگاه تنفس بیشترین اهمیت اقتصادی را دارند و آلودگی سیستم تولید مثلی در نگهداری و انتقال BVDV در میان جمعیت‌های گاو از طریق تولید گوساله‌های مبتلا به عفونت پایدار (persistently infected; PI) امری بسیار مهم می‌باشد. وضعیت PI در اثر آلودگی گاو قبل از روز ۱۲۵ آبستنی و بروز تحمل ایمنی در گوساله شکل می‌گیرد (Constable et al. 2017). چندین روش انتقال BVDV مشخص شده است. ویروس می‌تواند به صورت افقی در بین گله‌ها انتشار یابد و نیز به صورت عمودی از گاو به گوساله منتقل شود. انتقال افقی می‌تواند از طریق دام‌هایی که در دوره‌ی حاد بیماری قرار دارند یا به واسطه‌ی دام‌های PI که ویروس را در تمام طول عمر خود از طریق ترشحاتشان دفع می‌کنند صورت گیرد. گزارشاتی مبنی بر انتقال BVDV از طریق معاینات توشه رکتال، سرسوزن آلوده و حلقه بینی وجود دارد. انتقال تجربی از طریق ناقلینی همانند مگس اسب و مگس اصطبل نیز با موفقیت صورت گرفته است (Nelson et al. 2016). تحقیقات نشان می‌دهد BVDV طیف میزبانی گسترده‌ای دارد و می‌تواند به گونه‌هایی مثل خوک، گوسفند، بز، زرافه و گوزن انتقال یابد. آلودگی با پستی‌ویروس‌ها در گوسفند توزیع جهانی دارد و به واسطه‌ی اثر بر روی تولید مثل و سلامت گله باعث ضررهای اقتصادی می‌گردد. نشانه‌های

سیتوپاتیک^۱ NADL، استفاده شد که از مؤسسه‌ی واکسن- سازی و سرم‌سازی رازی به عنوان سویه‌ی مرجع تهیه گردید. برای تکثیر ویروس، کشت سلول‌های بوقک بینی گاو (BT)^۲ مورد استفاده قرار گرفت. کشت سلول در ظروف یک بار مصرف استریل و با محیط کشت RPMI به همراه ۵ درصد سرم جنین گاو (FBS) انجام پذیرفت. از آن جا که ویروس، آسیب سلولی ایجاد می‌کند (CPE)^۳، با مشاهده‌ی آثار تخریب سلول، کشت سلول متوقف گردید و سلول‌ها یک بار در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد منجمد و پس از آن در دمای اتاق ذوب شدند تا ویروس‌های محبوس در سلول‌ها به میزان بیش‌تری آزاد شوند. سپس بقایای سلولی با سانتریفیوژ حذف گردیدند و مایع رویی به عنوان منبع ویروس در چند میکروتیوب تقسیم گردید و برای آزمون خشتی‌سازی ویروس، در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد در فریزر نگهداری شد.

مرحله ۲: عیارسنجی ویروس و انجام آزمایش VN جهت تعیین سرم‌های مثبت و منفی: در این مطالعه تمامی نمونه‌های سرمی گوسفندان تحت مطالعه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد (به منظور غیرفعال کردن کمپلمان) گرم‌خانه‌گذاری شدند. برای آزمایش خشتی‌سازی، ابتدا ۱۰ میکرولیتر از هر یک از نمونه‌های سرمی در دو حفره از میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای مخصوص کشت سلول ریخته، سپس ۴۰ میکرولیتر محیط کشت RPMI^۴ (بدون سرم) حاوی آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و استرپتومایسین و ضد قارچ آمفوتریسین B به هر یک از نمونه‌های سرمی اضافه گردید. در مرحله‌ی بعد ۵۰ میکرولیتر از ویروس BVD تعیین عیار شده و رقیق شده در محیط کشت سلولی RPMI حاوی آنتی‌بیوتیک و ضد قارچ و ۲ درصد سرم جنین گاو که حاوی ۱۵۰ TCID₅₀^۵ از ویروس بود، به هر یک از گوده‌ها اضافه

باز از نظر جنبه‌های اپیدمیولوژیکی در یک منطقه و از نظر کاربردی دارای اهمیت می‌باشد. لذا مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین میزان آلودگی به ویروس اسهال ویروسی گاو (BVDV) در گوسفند‌های استان خوزستان طراحی شده است. تا ضمن تعیین فراوانی آلودگی سرمی، ارتباط بین آلودگی با سن، جنس و موقعیت جغرافیایی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش کار

در این مطالعه از تعداد ۳۱۸ رأس گوسفند بومی ۵ شهر از استان خوزستان خونگیری به عمل آمد. بعد از خونگیری از ورید و داج و انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از جدا کردن لخته توسط اپلیکاتور از دیواره‌ی لوله‌ی آزمایش و انجام سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، سرم‌ها جدا و به کمک سمپلر به میکروتیوب ۱/۵ سی‌سی منتقل و شماره‌گذاری گردید. سرم‌های تهیه شده تا زمان انجام آزمایش خشتی‌سازی سرم و الیزای رقابتی در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. گوسفندان تحت مطالعه از شهرهای باغملک، شوشتر، هندیجان، اهواز، و بهبهان به ترتیب ۵۰، ۵۸، ۷۷، ۸۶ و ۴۷ رأس بودند که به ۲ دسته‌ی ماده (۲۸۹ رأس) و نر (۲۹ رأس) تقسیم شدند. گوسفندان با استفاده از فرمول دندان‌دانی (وضعیت دندان‌های پیش آن‌ها)، در ۴ گروه سنی شامل ۱، ۲، ۳ و ۴ سال دسته‌بندی شدند که به ترتیب شامل ۵۲، ۵۱، ۷۵ و ۱۴۰ رأس بودند.

به منظور جستجوی پادتن ضد ویروس اسهال ویروسی گاو در سرم گوسفندان تحت مطالعه از آزمایش خشتی‌سازی ویروس (VN) استفاده گردید. این آزمایش طی مراحل زیر انجام گرفت:

مرحله ۱: تکثیر ویروس در کشت سلول BT: در این تحقیق از ویروس اسهال ویروسی گاو (BVDV)، سویه‌ی

1- National Animal Disease Laboratory
4- Bovine Turbinate Cell
3- Cytopathic Effect
4- Roswell park Memorial Institute
5- Tissue Culture Infectious dose 50

تجزیه و تحلیل آماری نشان داد ارتباطی بین جنس و آلودگی وجود ندارد ($P > 0/05$)، رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد که شانس آلودگی جنس نر ۱/۷۸ برابر جنس ماده (فاصله اطمینان ۹۵ درصد ۳/۸۵ - ۰/۸۳) است ($P > 0/05$) و جنس ۰/۹ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه‌ی آلودگی به ویروس اسهال ویروسی گاو (BVDV) در گوسفندان تحت مطالعه بر حسب جنس

آلودگی جنس	مثبت (درصد)	منفی (درصد)	جمع کل
ماده	۱۱۸ (۴۰/۸)	۱۷۱ (۵۹/۲)	۲۸۹
نر	۱۶ (۵۵/۲)	۱۳ (۴۴/۸)	۲۹
جمع کل	۱۳۴ (۴۲/۱)	۱۸۴ (۵۷/۹)	۳۱۸

ارتباطی بین رده‌ی سنی و آلودگی در خشتی‌سازی ویروس برای گوسفند دیده نشد ($P > 0/05$). رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد در گوسفند شانس آلودگی بین سن برحسب سال و بیماری ۱/۱۷ (فاصله اطمینان ۹۵ درصد ۱/۳۷ - ۱/۰۳) است ($P < 0/05$) و با افزایش ۱ سال شانس آلودگی ۱۷ درصد افزایش می‌یابد و سن ۱/۷ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند (جدول ۲).

جدول ۲: مقایسه‌ی آلودگی به ویروس اسهال ویروسی گاو (BVDV) در گوسفندان تحت مطالعه بر حسب سن

آلودگی سن (سال)	مثبت (درصد)	منفی (درصد)	جمع کل
۱	۱۹ (۳۶/۵)	۳۳ (۶۳/۵)	۵۲
۲	۱۶ (۳۱/۴)	۳۵ (۶۸/۶)	۵۱
۳	۳۳ (۴۴)	۴۲ (۵۶)	۷۵
≥ 4	۶۶ (۴۷/۱)	۷۴ (۵۲/۹)	۱۴۰
جمع کل	۱۳۴ (۴۲/۱)	۱۸۴ (۵۷/۹)	۳۱۸

ارتباطی بین رده‌ی موقعیت جغرافیایی و آلودگی مشاهده گردید ($P < 0/001$). به طوری که باغملک با شوشتر

گردید. سپس میکروپلیت‌ها به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و در انکوباتور کشت سلول گرم-خانه‌گذاری گردیدند. بعد از اتمام زمان گرم‌خانه‌گذاری، ۵۰ میکرولیتر از سلول‌های ترپسینه‌ی شناور در محیط کشت سلولی RPMI حاوی آنتی‌بیوتیک و ضد قارچ و ۲ درصد سرم جنین گاو که به طور تقریبی حاوی ۱۵۰۰۰ سلول بود، به هر یک از گوده‌ها اضافه شد و میکروپلیت-ها در انکوباتور کشت سلول در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، در حضور ۲/۵ درصد CO₂ و ۸۸ درصد رطوبت قرار گرفتند. میکروپلیت‌ها هر روز تحت مشاهده‌ی میکروسکوپی قرار گرفتند و پس از ۳ تا ۵ روز بر اساس وجود یا عدم وجود آثار تخریب سلول (CPE)، وجود یا عدم وجود آنتی‌بادی‌های خشتی‌کننده‌ی ضد BVDV در نمونه‌های سرمی مورد آزمایش، مشخص شد. تعدادی از گوده‌های میکروپلیت‌ها محتوی شاهد ویروس و شاهد سلول بودند. در گوده شاهد ویروسی به جای نمونه‌ی سرمی، فقط ۵۰ میکرولیتر محیط کشت سلولی RPMI حاوی آنتی‌بیوتیک و ضد قارچ و ۲ درصد سرم جنین گاو اضافه شد و بقیه‌ی مراحل مشابه مراحل انجام شده برای نمونه‌های سرمی بود و در گودی شاهد سلولی به جای نمونه‌های سرمی و ویروس، فقط ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت سلولی RPMI حاوی آنتی‌بیوتیک و ضد قارچ و ۲ درصد سرم جنین گاو اضافه شد و بقیه‌ی مراحل مشابه مراحل انجام شده برای نمونه‌های سرمی بود، در این آزمایش، در گوده‌های شاهد ویروس آثار تخریب سلول مشاهده و در گوده‌های شاهد سلول هیچ آثار تخریبی ناشی از تکثیر ویروس مشاهده نخواهد شد (OIE 2008).

نتایج

نتایج این مطالعه نشان داد از مجموع ۳۱۸ رأس گوسفند تحت مطالعه از تعدادی از شهرستان‌های استان خوزستان، ۱۳۴ (۴۲/۱) رأس دارای پادتن ضد ویروس اسهال ویروسی گاو (BVDV) بودند.

باشد استفاده می‌گردد. چون کیت‌های تجاری الیزا به طور معمول برای ردیابی آنتی‌بادی ضد BVDV در سرم خون گاو طراحی شده‌اند و احتمالاً با توجه به استفاده از کونژوگ‌های اختصاصی قابل انجام برای همه‌ی گونه‌های نشخوارکنندگان نمی‌باشند. به طوری که امکان ردیابی آنتی‌بادی ضد BVDV در سرم خون گاو‌میش با الیزا وجود نداشته به همین دلیل Haji Hajikolaie و همکاران در سال ۲۰۱۶ از روش خنثی‌سازی ویروس برای ردیابی الودگی در گاو‌میش استفاده کردند. در بررسی ایشان از مجموع ۲۲۴ رأس گاو‌میش تحت بررسی (۲۱/۴۳ درصد) ۴۸ رأس دارای آنتی‌بادی ضد ویروس اسهال ویروسی گاو بودند ولی با استفاده از کیت تجاری الیزا هیچکدام از گاو‌میش‌های تحت بررسی واجد آنتی‌بادی ضد ویروس BVD نبودند.

عفونتهای ناشی از BVDV از تمامی قاره‌های جهان و اکثر کشورهای دنیا گزارش شده و عموماً گزارش‌های اولیه در هر کشوری مبتنی بر آزمایشات سرولوژیک می‌باشد. در بررسی‌هایی که طی سال‌های گذشته در رابطه با این بیماری در ایران صورت گرفته است نیز به حضور آن با استفاده از آزمایشات سرولوژیک اشاره شده است. Seifi Abad Shapouri و همکاران در سال ۲۰۰۷ با استفاده از خنثی‌سازی ویروس فراوانی حضور پادتن ضد پستی‌ویروس‌ها در گوسفند و بز اهواز را به ترتیب ۴۶/۶۲ درصد و ۳۲/۸۷ درصد گزارش نموده‌اند. در بررسی Keyvanfar و همکاران در سال ۱۹۹۹ در تعدادی از استان‌های ایران با استفاده از آزمون خنثی‌سازی ویروس، فراوانی آلودگی گوسفندان به پستی‌ویروس ۱۳/۵ درصد گزارش شد که استان چهارمحال بختیاری با ۲۱/۲ درصد بیش‌ترین فراوانی و استان خراسان با ۴/۱ درصد کم‌ترین میزان آلودگی را به خود اختصاص دادند. مطالعه‌ی صورت گرفته در مصر نشان داد که میزان آلودگی در گاو، گاو‌میش، گوسفند، بز و شتر به ترتیب ۴۹/۲ درصد، ۵۲ درصد، ۲۷/۵ درصد، ۳۱/۴ درصد و ۵۲/۵ درصد می‌باشد (Zaghawa 1998). تحقیقات انجام

($P < 0/001$) و بهبهان ($P < 0/001$)، شوشتر با هندیجان ($P < 0/001$) و اهواز ($P < 0/001$) و بهبهان با هندیجان و اهواز ($P < 0/001$) اختلاف داشتند. شانس آلودگی در شوشتر نسبت به باغملک ۵/۴۱ برابر (فاصله اطمینان ۹۵ درصد ۱۲/۴۳-۲/۳۵) ($P < 0/001$)، شانس آلودگی در هندیجان نسبت به باغملک ۱/۲۹ برابر (فاصله اطمینان ۹۵ درصد ۲/۸۵-۰/۵۸) ($P > 0/05$)، شانس آلودگی در اهواز نسبت به باغملک ۱/۲۳ برابر (فاصله اطمینان ۹۵ درصد ۲/۷-۰/۵۶) ($P > 0/05$)، شانس آلودگی در بهبهان نسبت به باغملک ۶/۷۱ برابر (فاصله اطمینان ۹۵ درصد ۱۶/۳۲-۲/۷۶) ($P < 0/001$) بود. موقعیت جغرافیایی ۱۶/۹ درصد از آلودگی را توجیه می‌نماید (جدول ۳).

جدول ۳: مقایسه‌ی آلودگی به ویروس اسهال ویروسی گاو (BVDV) در گوسفندان تحت مطالعه بر حسب موقعیت جغرافیایی

شهر	آلودگی	مثبت (درصد)	منفی (درصد)	جمع کل
باغملک	۱۳ (۲۶)	۳۷ (۷۴)	۵۰	
شوشتر	۳۸ (۶۵/۵)	۲۰ (۳۴/۵)	۵۸	
هندیجان	۲۴ (۳۱/۲)	۵۳ (۶۸/۸)	۷۷	
اهواز	۲۶ (۳۰/۲)	۶۰ (۶۹/۸)	۸۶	
بهبهان	۳۳ (۷۰/۲)	۱۴ (۲۹/۸)	۴۷	
جمع کل	۱۳۴ (۴۲/۱)	۱۸۴ (۵۷/۹)	۳۱۸	

بحث

در این مطالعه برای ردیابی آنتی‌بادی ضد BVDV از آزمایش خنثی‌سازی سرم (VN) استفاده گردید. این روش یک روش استاندارد برای جستجوی آنتی‌بادی ضد BVDV و تعیین آلودگی سرمی می‌باشد و معمولاً سایر روش‌ها را با این روش می‌سنجند. در این روش از سویه‌ی سیتوپاتیک ویروس استفاده می‌شود (Constable et al. 2017). این روش به دلیل این که نیاز به کشت سلول دارد کم‌تر از روش الیزا که یک روش سریع می-

ویروس اسهال ویروسی گاو هر ۲ جنس نر و ماده را آلوده می‌سازد. تمایل به جنس خاص ندارد گرچه بیش-ترین عوارض ناشی از آن در اثر آلودگی در جنس ماده بروز می‌نماید. در این مطالعه اختلاف معنی‌داری بین دو جنس نر و ماده وجود نداشت که با مطالعه‌ی Haji Hajikolaei و Seifi Abad-Shapouri در سال ۲۰۰۷ در گاو هم‌خوانی دارد ولی با مطالعه‌ی Haji Hajikolaei و همکاران در سال ۲۰۱۶ و Hemmatzadeh و همکاران در سال ۲۰۰۱ هم‌خوانی ندارد. عدم ارتباط بین جنس با آلودگی بیش از آن که مرتبط با جنس باشد به سن دام‌های تحت بررسی مربوط است زیرا نشان داده شده که سن دام‌های ماده تحت بررسی بیش‌تر از دام‌های نر می‌باشند و با افزایش سن بر میزان آلودگی افزایش می‌یابد.

در این مطالعه، بین شهرهای مختلف تحت مطالعه اختلاف معنی‌داری وجود داشت. به طوری که بیش‌ترین میزان فراوانی مربوط به شهرهای شوشتر و بهبهان می‌باشد. مهم‌ترین عامل در فراوانی آلودگی در یک گله و یا یک منطقه وجود دام‌های دارای عفونت پایدار (PI) است و تغییرات محیطی تأثیر آن‌چنانی در انتشار ویروس ندارند. شاید به همین دلیل علت عمده‌ی اختلاف بین شهرهای تحت مطالعه را بتوان به حضور گوسفندان PI نسبت داد گرچه فراوانی حضور آن‌ها در این مناطق مشخص نمی‌باشد اما نقش آن‌ها در انتقال ویروس بین گوسفندان ثابت شده است (Constable et al. 2017, Krametter-Froetscher et al. 2010). از طرف دیگر در منطقه‌ی شوشتر و بهبهان بیش‌ترین محل نگهداری گوسفندان و بزهای عشایر در فصول پائیز و زمستان است که عمدتاً از استان‌های چهارمحال بختیاری، کهگیلویه و بویر احمد و فارس می‌باشند. با توجه به فراوانی آلودگی بالای گوسفندان استان چهارمحال بختیاری در مقایسه با سایر استان‌های ایران در مطالعه‌ی Keyvanfar و همکاران در سال ۱۹۹۹ به این ویروس، شاید علت احتمالی فراوانی بیش‌تر آلودگی در شوشتر و بهبهان ورود گوسفندان PI از این استان‌ها به این شهرها و انتشار

گرفته در ارتباط با شیوع سرمی پستی‌ویروس‌ها در جمعیت گوسفندان اتریش، نشان داده که ۲۹/۴ درصد گوسفندان و ۶۲/۹ درصد گله‌ها سرم مثبت‌اند، که از این میان ۸۵ درصد از سرم مثبت‌ها BVDV-1، ۱۴ درصد BDV و یک درصد BVDV-2 بودند (Passler 2014). در مطالعه‌ی مشابه که بر روی بزهای اتریش انجام گرفته شیوع سرمی آلودگی با پستی‌ویروس در بزها ۱۱/۵ درصد بوده که ۹۴ درصد سرم مثبت‌ها BVDV-1 و ۶ درصد آن-ها BVDV-2 بودند. شواهدی دال بر آلودگی بزها با BDV وجود نداشت (Bachofen 2013). از نظر فراوانی آلودگی به BVDV، بین نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج حاصل از مطالعات مشابه در ایران و سایر کشورها اختلاف وجود دارد که آن را می‌توان به اختلاف فاکتورهای محیطی یا منطقه‌ای، ایمنی دام‌ها و اقداماتی مانند رعایت نکات بهداشتی و غیره که در دام‌داری‌ها صورت می‌گیرد نسبت داد (Krametter-Froetscher et al. 2010).

در بررسی حاضر ارتباط معنی‌داری بین سن گوسفندان تحت مطالعه با آلودگی دیده نشد. وجود آنتی‌بادی در ماه‌های اول زندگی ممکن است ناشی از انتقال پسیو ایمنی از طوق آغوز یا تماس با ویروس در دوره‌ی جنینی بعد از فعال شدن سیستم ایمنی و تولید آنتی‌بادی باشد. به مرور از میزان این آنتی‌بادی بعد از تولد کاهش یافته و جای خود را به آنتی‌بادی تولیدی ناشی از تماس با ویروس می‌دهد و این انتظار وجود دارد که با افزایش سن تماس با ویروس نیز بیش‌تر شده و تعداد دام‌های سرم مثبت افزایش یابد (Keyvanfar et al. 1999). لذا بالا بودن فراوانی گوسفندان سرم مثبت در سنین زیر یک سال را می‌توان تا حدودی به انتقال آنتی‌بادی مادری و بقای آن تا سن ۴ ماهگی نسبت داد. ولی افزایش فراوانی گوسفندان سرم مثبت در سنین ۳ سال و ≥ 4 سال در مقایسه با سنین ۱ تا ۲ سال را می‌توان به مواجهه‌ی بیش-تر ویروس با افزایش سن مرتبط دانست. گرچه این افزایش معنی‌دار نبوده ولی قابل انتظار بوده است.

جابجایی ویروس BVD و بالا بودن فراوانی آلودگی در گوسفند در مقایسه با گاو ۲۸/۵ درصد (Haji Hajikolaie et al. 2010) و امکان انتقال ویروس از گوسفند به گاو، نشان می‌دهد که یک برنامه کنترل BVDV تنها بر اساس ریشه-کنی گاوهای PI موفق نخواهد بود. به خصوص در مناطقی که تماس بسیار نزدیک بین نشخوارکنندگان کوچک و گاو وجود دارد. لذا اپیدمیولوژی عفونت‌های ناشی از پستی ویروس‌ها در نشخوارکنندگان کوچک باید در هر برنامه‌ی ریشه‌کنی BVDV مورد توجه قرار گیرد.

ویروس در بین گوسفندان این شهرستان‌ها باشد که برای اثبات این مدعا نیاز به بررسی‌های بیش‌تر و مقایسه‌ی فراوانی گوسفندان PI این مناطق می‌باشد.

نتایج حاصل از این مطالعه، یافته‌های قبلی در مورد آلودگی با پستی ویروس‌ها در استان خوزستان را گسترش داده است (Haji Hajikolaie et al. 2007, 2010, 2016, Seifi Abd-Shapouri et al. 2007) و نشان می‌دهد که آلودگی با BVDV در جمعیت گوسفندان استان خوزستان اندمیک می‌باشد. علاوه بر این با توجه به چرخه‌ی تعادل بین نشخوارکنندگان کوچک و بزرگ از نظر انتقال و

تشکر و قدردانی

نویسندگان تقدیر و تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر حمایت مالی این مطالعه در قالب گرنت اعلام می‌نمایند.

منابع

- Bachofen, C.; Vogt, H.; Stalder, H.; Mathys, T.; Zaroni, R.; Hilb, M. and Peterhans, E. (2013). Persistent infections after natural transmission of bovine viral diarrhoea virus from cattle to goats and among goats. *Veterinary Research*; 44:32.
- Constable, P.D.; Hinchcliff, K.W.; Done, SH. and Granberg, W. (2017). *Veterinary Medicine*. 11th ed. W.B. Saunders Copmpany, London, UK. Pp: 577-599.
- Cranwell, M.P.; Otter, A.; Errington, J.; Hogg, R.A.; Wakeley, P. and Sandvik, T. (2007). Detection of border disease virus in cattle. *Veterinary Record*, 11: 211-212.
- Haji Hajikolaie, M.R.; Seyfiabad Shapouri, M.R. and Mami, F. (2016). Comparison between commercial ELISA kit and virus neutralization test for detection of antibodies against bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in buffalo. *Iranian Veterinary Journal*, 12 (3): 23-31.
- Haj Hajikolaie, M.R. and Seyfi Abad Shapouri, M.R. (2007). Serological Study of Bovine Viral Diarrhoea Virus Infection of Cattle in Ahwaz. *Journal of Veterinary Research*, 62 (1): 21-26.
- Haji Hajikolaie, M.R.; Seifi Abad-Shapouri, M.R. and Lotfi, M. (2010). Serological study of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Ahwaz (Southwestern of Iran). *International Journal of Veterinary Research*, 4(1): 19-22.
- Hemmatzadeh, F.; Kojouri, G.; Kargar, Moakhar, R. and Rohany, M. (2001). A Serological Survey on Bovine Viral Diarrhoea Virus Infection in Chahar Mahal Bakhtiary Province, Iran. *Journal of Veterinary Research*, 56 (3): 85-92.
- Keyvanfar, H.; Hemmatzadeh, F. and Kargar-Moakhar, R. (1999). A Serological Survey on Prevalence of Sheep Border Disease in Iran. *Archives of Razi Institute*, 50: 29-34.
- Krametter-Froetscher, R.; Duenser, M.; Preyler, B.; Theiner, A.; Benetka, V.; Moestl, K. and Baumgartner, W. (2010). Pestivirus Infection in Sheep and Goat in West Austria. *Veterinary Journal*, 186: 342-346.
- Krametter-Frötscher, A.; Loitsch, A.; Kohler, H.; Schleiner, A.; Schiefer, P.; Möstl, K. et al. (2007) Serological survey for antibodies against pestiviruses in sheep in Austria, *Veterinary Record*, 160: 726-730.
- Krametter-Froetscher, R.; Benetka, A.; Duenser, M.; Bagó, Z.; Theiner, A.; Preyler, B. et al. (2008). Descriptive study of a pestivirus infection in an Austrian goat, *Veterinary Record*, 163: 192-194.

- Nelson-Danielle, D.; Duprau-Jennifer, L.; Wolff-Peregrine, L.; Evermann, James, F. (2016). Persistent Bovine Viral Diarrhea Virus Infection in Domestic and Wild Small Ruminants and Camelids Including the Mountain Goat (*Oreamnosamericanus*). *Frontiers in Microbiology*, 6: 1415-1422.
- OIE Manual of Diagnostic Test and Vaccines for terrest Animals (mammals, birds and bees). (2008). Vol. 2, 6th ed., Pp: 698-711.
- Paton, D.; Gunn, M.; Sands, J.; Yapp, F.; Drew, T.; Vilcek, S. and Edwards, S. (1997). Establishment of serial persistent infections with bovine viral diarrhoea virus in cattle and sheep and changes in epitope expression related to host species. *Archives of Virology* 142: 929-938.
- Passler, T.; Riddell-Kay, P.; Edmondson-Misty, A.; Chamorro-Manuel, F.; Neill-John, D.; Broderscn-Bruce, W. et al. (2014). Experimental infection of pregnant goats with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) 1 or 2. *Veterinary Research*, 45(1): 38.
- Seifi Abad-Shapouri, M.R.; Haji Hajikolaei, M.R.; Lotfi, M.; Rasoli, A. and Karimi, A. (2007). Serological Survey of Pestivirus Infection of Small Ruminants in Ahvaz, Iran, *Archives of Razi Institute*, 62(2): 105-108.
- Zaghawa, A. (1998). Prevalence of antibodies to bovine virus diarrhoea virus and/or border disease virus in domestic ruminants. *Journal Veterinary Medicine*, B, 45(6): 345-351.

Seroprevalence of bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection in sheep of Khouzestan province

Barjasteh, K.¹; Haji Hajikolaie, M.R.²; Seyfi Abad Shapouri, M.R.³;
Pourmahdi Borujeni, M.⁴; Nouri, M.² and Dagheri, M.⁵

Received: 14.06.2018

Accepted: 24.12.2018

Abstract

This serological survey was carried out to determine the prevalence rate of bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection in sheep in Khouzestan province, Southwest of Iran. For this purpose, blood samples were taken from 318 sheep of 5 districts, Baghmalek, Shoshtar, Hendijan, Ahvaz, and Behbahan that divided into sex and four age groups (1, 2, 3, and ≥ 4 years old). Sera were tested by virus neutralization test (VN) using NADL, strain of bovine viral diarrhea virus genotype 1 for detection of antibodies of BVDV. The results indicated 134((41.2%) sheep had antibodies to BVDV. The prevalence of infection in females and males were 40.8% and 55.2%, respectively. The prevalence of infection in 4 age groups were 36.5%, 31.4%, 44%, and 47.1% respectively. Behbahan (70.2%) and Baghmalek (26%) respectively, had higher and lower rate of infection. Statistical analysis showed no-relationship between age and sex groups with infection while this difference between districts were significant. It is concluded that BVDV infection in Khouzestan province are endemic and infection of sheep and transmit to cattle should be considered in control and eradication of BVDV in cattle.

Keywords: BVDV, Seroprevalence, Infection, Sheep, Khouzestan

1- DVSc Graduated of Large Animal Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

2- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

3- Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

4- Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

5- Expert, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Corresponding Author: Haji Hajikolaie, M.R., E-mail: mhajih@scu.ac.ir