بررسی عفونت پایدار پستی ویروسی در گاوداریهای اطراف تهران

• **روحانی کارگر موخر**، عضو هیأت علمی موسسه تحقیقاتی رازی
• **فرید همت زاده**، عضو هیأت علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت : مهرماه ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: فروردین ماه ۱۳۸۳

چکیده

این تحقیق با هدف مشخص نمودن میزان عفونت پایدار پستی ویروسی در گاوداری‌های اطراف تهران به روش‌های الایزای تسخیری و ایمونوفلئورسنت مستقیم روی ۳۷۵ نمونه بافی کوت مربوط به گاوهای سن سه ماه به بالا در فاصله زمانی پاییز ۱۳۸۰ تا تابستان سال ۱۳۸۱ انجام گرفت. نتایج حاصل از آزمون های فوق الذکر نشان می‌دهد که از بین ۳۷۵ نمونه آزمایش شده به روش الایزای تسخیری تعداد ۱۹ نمونه مثبت و ۳۵۶ نمونه منفی مشاهده گردیده‌اند که میزان آلودگی برابر۷/۴٪ برآورد می‌گردد، در حالی که نتایج حاصل از آزمون FA انجام گرفته بر روی همین نمونه‌ها هم حاکی از پاسخ مثبت در ۲۱ مورد بود که میزان آلودگی با توسل به روش FA معادل ۸/۲ ٪ محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل حاکی از عدم وجود اختلاف معنی‌دار در پاسخ‌های حاصل از این دو آزمون در تشخیص آلودگی‌های پستی ویروسی می‌باشد. از بین ۳۷۵ نمونه آزمایش شده تعداد ۳۲۴ نمونه مربوط به گاوهای ماده و ۳۳ مورد نر بودند که میزان آلودگی در جمعیت ماده‌ها در آزمون الیزا برابر ۴/۶٪ و در آزمون FA برابر ۵/۵٪ و در جمعیت نرها در هر دو آزمون برابر ۹/۰۱ ٪ برآورد می‌گردد که تجزیه و تحلیل آماری حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین این دو گروه می‌باشد. تشخیص این سطح از آلودگی نشانگر درگیری وسیع گاوها در سطح مملکت و خود زنگ خطری جدی جهت انجام هرچه سریعتر برنامه‌های مشخص مبارزه با این بیماری در سطح مملکت است.

کلمات کلیدی: پستی ویروس، الیزای تسخیری، ایمونوفلورسانت مستقیم، عفونت دائمی

Pajouhesh & Sazandegi No:63 pp: 21-25

A Survey for detecting pestivirus antigen in persistinty infected cattle around Tehran

By: R. Kargar Moakhar, Razi Institute Tehran, Iran
F. Hemmatzadeh, Vet College University of Tehran, Iran

In order to detection of prevalence of persistently infected cattle to pestivirial infection in dairy farms of Tehran aria was conducted on 375 buffey coat samples of upper 3 months ages between Autumn 2001 to Winter 2002. In this study all of the samples were tested by Immunocapture ELISA and direct fluorescent antibody. From 375 tested samples 19 were positive in ELISA (7.4%) and 21 were positive in FA (8.2%). In statistical analysis no significant diference were seen in the results of these tests and in the infection rate in different sexes. This level of infection is highly note able in dairy farms of this aria.

Kay words: Pestivirus, Immunocapture ELISA, Direct fluorescent, Persistently infected

مقدمه

ویروس مولد اسهال ویروسی گاوان متعلق به جنس پستی ویروس از خانواده فلیوی ویریده[1] است. خانواده فلیوی ویریده دارای ۳ جنس فلیوی ویروس[2]، پستی ویروس[3] و هپاسی ویروس[4] می‌باشد.اعضای خانواده فلیوی ویریده اگرچه ازنظر خواص ژنومی و فیزیکوشیمیایی به هم شباهت دارند ولی از نظر خواص بیولوژیک کاملاً متفاوتند. جنس پستی ویروس شامل ویروس اسهال ویروسی گاوان[5] (BVD)، ویروس بیماری بردر[6] (BD) و ویروس طاعون خوکی[7] (HoCV) بوده که هرکدام از نظر بیماریزایی و مخاطرات اقتصادی اهمیت ویژه ای را در دامپزشکی دارا می‌باشند. (۱۱،۲)

اسهال ویروسی گاو ابتدا در نیویورک در سال ۱۹۴۶ به عنوان یک بیماری جدید در گاو شناخته شد و سپس در دهه ۱۹۵۰ شکل بالینی دیگرآن یعنی بیماری مخاطی، کشف شد که از بعضی جنبه‌ها مانند شدت بیماری و الگوی بروز در گله با بیماری قبلی اختلاف داشت. ویروس‌های جدا شده از هر دو بیماری مشخص کرد که این دو در واقع عامل یکسانی دارند (۱۳).

در سال ۱۹۴۰ بیماری بُردر با علایم مشخص لرزش و مومی شدن پشم (پوشش) گله‌های گوسفند واقع در مرز کشورهای انگلستان و ولز گزارش شد. مطالعات سرولوژیکی مخصوصاً در سال‌های ۱۹۷۰ به بعد در سراسر دنیا نشان داد که بیماری گسترش جهانی دارد (۹).

تعیین ردیف ژنوم ویروسی نشان می‌دهد که ویروس این سه بیماری دارای وابستگی نزدیک هستند. به طریق تجربی نشان داده شد که این ویروس‌ها دارای طیف میزبانی مشترکی هستند. ویروس طاعون خوکی می‌تواند به گاو منتقل شود و ویروس اسهال ویروسی گاو می‌تواند خوک، گوسفند و بز را آلوده کرده و به همان میزان دیگر سم داران را نیز آلوده نماید (۱۳).

ویریون پستی ویروس‌ها کروی با قطر ۵۰ نانومتر واجد ژنوم RNA تک رشته‌ای با سنس مثبت و شامل یک غشاء مستحکم لیپیدی پیچیده، پوشیده از پپلومرهای احاطه کننده نامشخص و یک نوکلئوکپسید کروی با تقارن بیست وجهی می‌باشد .پستی ویروس‌ها در محیط بسیار ناپایدار بوده و به وسیله گرما و گندزداهای معمولی سریعاً غیر فعال می‌شوند (۱۳).

عواقب ناشی از بروز عفونت به عوامل چندی از قبیل رخداد ویرمی، سویه ویروسی، عملکرد دستگاه ایمنی، رخداد عفونت ازطریق جفت، ایجاد تحمل ایمنی و بالاخره چگونگی پاسخ ایمنی بستگی دارد. اغلب ضایعات ناشی از این ویروس به دستگاه تنفس، دستگاه گوارش و دستگاه اعصاب مرکزی محدود می‌شود (۱۹،۱۸،۱۶،۱۵).

ویروس BVD قادر است که از سد جفت و سد خونی – مغزی جنین گذشته و ضایعاتی را در دستگاه اعصاب مرکزی و مغز ایجاد کند، به همین دلیل عفونت قبل از تولد و دوران جنینی با ویروس BVD از اهمیت بالایی برخودارمی‌باشد. در اوایل آبستنی ویروس BVD موجب مرگ جنین و در نتیجه عوارضی چون مومی‌شدن، سقط و جذب جنین می‌گردد. اگر گاو آبستن قبل از تکامل دستگاه ایمنی جنین به ویروس BVD سویه غیر سایتوپاتیک آلوده شود و جنین هم در اثر ویروس از بین نرود، این جنین دارای پاسخ ایمنی نسبت به این ویروس نبوده و پادتن‌های خنثی کننده ویروس در بدن جنین تشکیل نمی‌شود و پس از تولد هم به همین صورت باقی می‌ماند مگر این که با ویروس BVD سویه سایتوپاتیک عفونت یابد که دراین صورت بیماری مخاطی شکل می‌گیرد (۱۲، ۱۱،۷).

عفونت پایدار هنگامی‌اتفاق می‌افتد که جنین بعد از لانه گزینی و قبل از صلاحیت دار شدن دستگاه ایمنی با ویروس آلوده شده باشد، در این هنگام دستگاه ایمنی بدن به جای آن که به عفونت ویروسی پاسخ دهد در مقابل پادگن‌های ویروسی تحمل ایمنی پیدا کرده و اگر جنین توسط ویروس از بین نرود نوزادی ظاهراً سالم که ویروس را در تمام اعضاء بدن خود دارد، متولد خواهد شد و به طور پیوسته آن را به خارج دفع می‌کند. در گاو عفونت پایدار هنگامی ایجاد می‌شود که جنین قبل از ۱۲۵ روزگی یعنی قبل از تکامل دستگاه ایمنی با ویروس آلوده شود که در این هنگام پادتن‌های خنثی کننده ویروس ایجاد نشده و گوساله ای که دارای تحمل ایمنی به ویروس BVD می‌باشد حاصل خواهد شد. اگر جنین توسط ویروس از بین نرود، تا هنگام زایمان زنده مانده و گوساله دارای عفونت پایدار، متولد می‌شود. این تحمل ایمنی بسیار اختصاصی بوده و این حیوانات نسبت به پاگن‌های دیگر و سویه‌های هترولوگ ویروس BVD پاسخ ایمنی مثبت خواهند داشت (۱۳،۱۱،۷).

گاوهای ماده PI، فرزندان PI تولیدمی‌کنند و به نظرمی‌رسد که عفونت پایدار مهمترین مکانیسم بقای ویروس BVD در جمعیت گاوها باشد. بیماری مخاطی (MD) هنگامی رخ می‌دهد که گاو دارای تحمل ایمنی و PI که قبلاً با سویه غیر سایتوپاتیک آلوده شده، با سویه سایتوپاتیک ویروس BVD آلوده شود. به این ترتیب حضور سویه‌های سایتوپاتیک و غیر سایتوپاتیک ویروس BVD در یک حیوان PI موجب بیماری مخاطی می‌شود. منشأ ویروس سایتوپاتیک می‌تواند خارجی باشد مانند انتقال از دامهای بیمار و PI و یا واکسن‌های زنده تخفیف حدت یافته و یا دارای منشأ داخلی بوده و در اثر موتاسیون ویروس از سویه غیر سایتوپاتیک داخلی به وجود آمده باشد (۱۳،۱۱،۸،۷).

دو روش استاندارد برای تشخیص بیماری، جدا کردن ویروس و سرولوژی می‌باشد. اخیراً با پیشرفت تکنیک‌های تشخیص مولکولی، روش‌های زیادی برای پیدا کردن عفونت ویروس BVD پیدا شده است که یکی از این روش PCRمی‌باشد. روش‌های سریع تشخیص پادگن ویروس BVD در نمونه‌های بافت، به وسیله روش‌های ایمونوهیستوشیمی‌از قبیل رنگ‌آمیزی ایمونوفلورسانس و ایمونوآنزیم در مقاطع بافت‌های یخ زده امکان پذیر است. آنتی سرم‌های پلی کلونال و یا منوکلونال تهیه شده علیه ویروس BVD برای کشف پادگن ویروسی استفاده می‌شود (۱۷).

هدف از این بررسی اولاً مشخص نمودن وضعیت برخی گله‌های گاو شیری اطراف تهران از نظر موارد ابتلا به عفونت پایدار BVD و در ثانی مقایسه یافته‌های حاصل از دو آزمون الیزای تسخیری و پادتن فلئورسنت تهیه شده در ایران بود.

مواد و روش‌ها

مواد

کیت رد یابی پادگن پستی ویروس ساخت شرکت MOREDUN که شامل پلیت ۹۶ خانه کوت شده توسط دو پادتن منوکلونال ضد پروتئین‌های غیر ساختمانی ۱۲۵K/۸۰K پستی ویروس، آنتی گلوبولین ضد گاو، کونژوگه با پراکسیداز، کنترل‌های ۳+، ۲+، +و منفی، بافرهای مختلف لیز کننده، استخراج و شستشو، سوبسترای تترامتیل بنزیدین، پادتن فلئورسنت ضد پستی ویروس تهیه شده در ایران، لام فلئورسنت، الکل مطلق، استن، تامپون گلیسرین دار،PBS و فایکول

وسایل: دستگاه(ELISA reader (Statfax ۲۱۰۰ میکروسکوپ فلئورسنت، سانتریفیوژ،میکروفیوژ، سمپلر در اندازه‌های مختلف، انکوباتور

نمونه‌ها

نمونه‌های مورد آزمایش در این بررسی شامل ۳۷۵ نمونه خون کامل مربوط به گوساله‌ها و تلیسه‌های دارای سن ۴ تا ۳۰ ماه از گاوداری‌های اطراف تهران بودند. نمونه‌ها از مناطق، آبیک،جاده قدیم قم، اسلامشهر، موسی آباد، احمد آباد مستوفی، نظام آباد، حسن آباد ری، قره تپه شهریار، زرنان، ماهدشت کرج، و در فاصله زمانی تابستان تا اواخر زمستان ۱۳۸۰ اخذ و در کوتاهترین زمان ممکنه به آزمایشگاه ویروس شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ارسال گردیدند. به همراه هر نمونه فرم مشخصات از قبیل تاریخ محل، تعداد دام، وضعیت بهداشتی و علایم و ناهنجاری‌های احتمالی مشاهده شده در گاو مورد نظر تهیه و ارسال می‌گردید.

روش آزمایش

کلیه نمونه‌ها بلافاصله پس از دریافت در ۱۵۰۰RPM به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و بافی کوت نمونه جدا گردید. همه سعی بر آن بود که به هنگام جداسازی بافی کوت کمترین اختلاط با RBCهای موجود به عمل آید. پلاسمای نمونه‌ها هم جهت آزمون‌های تکمیلی جمع آوری و منجمد گردید و بافی کوت اخذ شده در ۳ لوله اپندرف مجزا جهت انجام آزمون‌های پیش بینی شده ریخته و شماره‌گذاری گردید(۱۰).

آزمون الیزا: پس از فراهم آوردن بافرها و مواد مورد نیاز آزمون الیزا مطابق دستور العمل سازنده OD نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ nm توسط دستگاه ELISA reader قرائت شده و موارد مثبت در فرم مشخصات مربوطه ثبت می‌گردید.

آزمون ایمونوفلئورسنت

قسمت دیگری از نمونه بافی کوت جدا شده که قبلاً به منظور انجام آزمون FA مستقیم جدا شده بود نیز بلا فاصله در سطح یک لام مخصوص فلئوروسنت قرار داده می‌شد. لام‌های فلئورسنت مورد استفاده واجد ۴ محل ویژه استقرار نمونه هستند که در هر لام معمولا ۳ محل برای نمونه‌ها و یک محل برای کنترل مثبت که تعلیق کشت سلولی آلوده به ویروس BVD بود در نظر گرفته می‌شد. البته در روز دریافت نمونه‌ها تنها ۳محل از لام به نمونه‌های بافی کوت مورد آزمایش اختصاص می‌یافت و در محل شاهد مثبت چیزی قرار نمی‌گرفت. پس از استقرار نمونه‌ها بر روی لامها، نمونه‌ها توسط محلول الکل – استن سرد فیکسه شده و پس از خشک شدن به فریزر ۲۰- منتقل می‌گردید.پس از اتمام مراحل مختلف نمونه گیری کلیه لام‌های فیکسه شده از فریزر خارج شده و یک بار به آرامی‌با PBS شستشو داده می‌شدند و در گوده جهارم کلیه لام‌ها تعلیق سلولی آلوده به ویروس BVD قرار داده می‌شدو به روش بالا فیکسه می‌گردید. سپس به میزان ۱۵۰میکرولیتر از رقت مناسب از پادتن ضد پستی ویروس کونژوگه شده با FITC به نمونه‌ها اضافه شده و یک ساعت در انکوباتور ۳۷ در جه در چمبر اسلاید مرطوب قرارمی‌گرفتند. پس از طی این زمان نمونه‌ها با PBS شسته شده و در حرارت اطاق خشک می‌گردیدند. کلیه لام‌ها سپس با تامپون گلیسرین دار مونته شده و در زیرمیکروسکوپ فلئورسنت مشاهد گردیدند. نمونه‌های مثبت در مقایسه با شاهد مورد مقایسه قرار گرفته و نتایج حاصله بدون در نظر گرفتن نتایج آزمون الیزا در فرم‌های جداگانه‌ای ثبت می‌گردید. پادتن مورد استفاده در این تحقیق توسط همت‌زاده و همکاران (۳) تهیه شد و پاسخ‌های حاصل از آن دارای همخوانی ۹۹/۳٪ با پادتن استاندارد ساخت شرکت Bio X می‌باشد (۲). قسمت سوم نمونه‌ها جهت آنجام آزمون‌های مولکولار بیولوژی در فریزر ۸۰- نگهداری گردید.

نتایج

پس از انجام آزمون الیزا بر روی ۳۷۵ نمونه فوق الذکر تعداد ۱۹ نمونه در آزمون الیزا پاسخ مثبت از خود نشان دادند و مابقی نمونه‌ها دارای پاسخ منفی بودند که میزان آلودگی در حد ۷/۴ ٪ برآورد می‌گردد. نتایج حاصل آز آزمون FA انجام گرفته بر روی همین نمونه‌ها هم حاکی از پاسخ مثبت در ۲۱ مورد بود که میزان آلودگی با توسل به روش FA معادل ۸/۲٪ برآورد می‌گردد.

	+FA	-FA	کل
الیزا+	۱۹	۰	۱۹
الیزا-	۲	۳۵۴	۳۵۶
کل	۲۱	۳۵۴	۳۷۵

جدول ۱- مقایسه آماری نتایج آزمونهای الایزا و ایمونوفلئورسنت در تشخیص پادگن‌های پستی ویروسی

تمامی‌نمونه‌هایی که در آزمون الیزا مثبت شده بودند در آزمون FA نیز پاسخ مثبت دادند و تنها ۲ مورد از نمونه‌های واجد پاسخ منفی در الیزا در آزمون FA پاسخ مثبت از خود نشان دادند . تجزیه و تحلیل آماری به روش آزمون مربع کای حاکی از عدم وجود اختلاف معنی‌دار در پاسخ‌های حاصل از این دو آزمون در تشخیص آلودگی‌های پستی ویروسی می‌باشد.

از بین ۳۷۵ نمونه آزمایش شده تعداد ۳۲۴ نمونه مربوط به گاوهای ماده و ۳۳ مورد نر بودند که میزان آلودگی در جمعیت ماده‌ها در آزمون الیزا برابر ۴/۶٪ و در آزمون FA برابر ۵/۵٪ در جمعیت نرها در هردو آزمون برابر ۹/۰۱ ٪ برآورد می‌گردد که تجزیه و تحلیل آماری حاکی از وجود

اختلاف معنی‌دار آماری بین این دو گروه می‌باشد.

بحث

به خاطر گسترش فزاینده عفونت‌های پستی ویروس در سراسر جهان و حضور چهره‌های بسیار متفاوت ناشی از عفونت با این ویروس‌ها در بین حیوانات مختلف، امروزه به ویژه در سیستم دامپروری مدرن، برنامه ریزی جهت مبارزه با این بیماری‌ها به ویژه BVD در زمره برنامه‌های اصلی مبارزه با بیماریهای عفونی می‌باشد (۱،۱۳).

در ایران نیز به دنبال انجام برخی تحقیقات محدود، گستردگی موارد ابتلا به این عفونت‌ها کاملاً مشهود می‌باشد. امکان انتقال گسترده ویروس در بین جمعیت‌ها و رخداد چهره بالینی بیماری BVD، انتقال از مادر به جنین و حضور دام‌های مبتلا به عفونت پایدار و شکل گیری موارد بیماری مخاطی (MD) از یک طرف و حضور سروتیپ‌ها و پاتوتیپ‌های متفاوت جرم از طرف دیگر، وضعیت پیچیده ای را از جهت برنامه ریزی به منظور شناخت و مبارزه با این بیماری ایجاد می‌نماید به طوری که در یک جمعیت می‌توان چهار حالت مختلف از نظر حضور دام‌های پادتن مثبت و پادگن منفی، پادتن مثبت و پادگن مثبت، پادتن منفی و پادگن مثبت و پادتن منفی و پادگن منفی را متصور شد و به همین دلیل است که بسیاری از محققین به کارگیری توأمان آزمون‌های ردیابی پادگن و ردیابی پادتن را جهت تشخیص وضعیت عفونت‌های پستی ویروسی اکیداً توصیه نموده اند. ناگفته نماند برخی از فرآورده‌های بیولوژیک مثل سرم‌های جنینی، واکسن‌های تهیه شده در کشت‌های سلولی و اسپرم‌های تهیه شده در مراکز تولید اسپرم نیز امکان آلودگی پستی ویروس را داشته و هر کدام می‌توانند به گسترش عفونت‌ها دامن بزنند (۱،۲،۳).

در مواردی آلودگی واکسن‌های تهیه شده در کشت سلولی مثل طاعون گاوی و اُرف[8] که زمینه ساز بروز عفونت‌های پستی ویروسی بوده اند، گزارش شده است. یکی از راههای تشخیص معمول و ردیابی پادگن‌های پستی ویروسی در نمونه‌های مرضی یا فرآورده‌های بیولوژیک، استفاده از آزمون ایمونوفلورسنت مستقیم می‌باشد. سایر روش‌ها که به طور معمول در دنیا مورد استفاده قرارمی‌گیرد شامل آزمون‌های ایمونوفلورسنت مستقیم، الایزای تسخیری[9]، ایمونوبلاتینگ، PCR و در حد محدودی ژل دیفوزیون می‌باشد. در بین این روش‌ها، روش FA هم از قدمت و هم از اعتبار زیادی برخوردار می‌باشد. در حال حاضر چند موسسه معتبر، پادتن‌های ضد پستی ویروس نشاندار با FITC را جهت تشخیص پادگن‌های پستی ویروسی تولید می‌نمایند که می‌توان به انستیتو وی بریج، انستیتو مردن و بیوکس اشاره نمود که هر کدام حساسیت و ویژگی روش‌های خود را بین ۹۵ تا ۹۸ درصد ذکر نموده‌اند(۱۳).

نکته مهم دیگری که در آزمون‌های ردیابی پادگن ازجمله آزمون FA می‌بایستی مورد توجه قرار گیرد، رخداد پاسخ‌های منفی کاذب به دلیل حضور پادتن‌های مادری می‌باشد. پادتن‌های مادری با پوشاندن پادگن‌های ویروسی به ویژه در حیوانات PI زیر سه ماه، اکثریت موارد واکنش‌های منفی کاذب را تشکیل می‌دهند. به همین منظور توصیه اکید سازندگان کیت‌های تشخیصی ردیابی پادگن‌های پستی ویروسی بر انجام آزمون در دامهای بالاتر از سه ماه و توأم نمودن آزمون‌های ردیابی پادتن و ردیابی پادگن با هم می‌باشد که این نکته در تهیه نمونه‌های مربوطه جهت آزمونهای الیزا و FA نیز رعایت گردیده است.

همانگونه که در مبحث نتایج نیز اشاره گردید،میزان آلودگی جمعیت مورد مطالعه در گاوداری‌های اطراف تهران برابر ۷/۴٪ برآورد می‌گردد البته اختلاف ظاهری (و نه آماری) موجود بین نتایج حاصل از الیزا و FA معنی‌دار نبوده و قابل چشم پوشی است. این میزان آلودگی ازمیزان آلودگی ذکر شده در جمعیت گاوها در سایر کشورها زیادتر می‌باشد، به عنوان مثال Nettleton طی بررسی وسیعی که در جمعیت گاوهای انگلستان انجام داده است اعلام نموده اگر آلودگی سرولوژیک گاوها در حد ۶۰ تا ۷۰ ٪ باشد می‌بایستی انتظار ۲تا ۳٪ آلودگی پایدار را در گله‌ها داشت ولی با توجه به بررسی‌های سرولوژیک انجام گرفته در مملکت میزان آلودگی سرولوژیک در حد ۲۳ تا ۵۲ ٪ و در اطراف تهران ۴۲٪ بوده است که در این شرایط انتظار حدود ۲٪ آلودگی پایدار می‌رود و افزایش این سطح از الودگی را به عوامل دیگری می‌بایستی نسبت داده شود. از آنجایی که کیت الیزای مورد استفاده در این تحقیق قابلیت تشخیص موارد آلودگی جدید یا شکل حاد و بالینی BVD را در گاو نیز دارا می‌باشد انتظار آنست که سهمی از موارد مثبت تشخیص داده شده در جمعیت مورد مطالعه به موارد عفونت پایدار و سهمی‌به عفونت جدید یا حاد BVD اختصاص یابد،تفکیک این دو حالت مستلزم انجام آزمون‌های ردیابی پادتن و پادگن در جمعیت‌ها می‌باشد ولی به هر حال تشخیص این سطح از آلودگی نشانگر درگیری وسیع گاوها در سطح مملکت می‌باشدکه این خود زنگ خطری جدی جهت انجام هرچه سریعتر برنامه‌های مشخص مبارزه با این بیماری در سطح مملکت می‌باشند(۶،۱۱،۱۴).

پاورقی ها

1 - Flaviviridae
2 - Flavivirus
3 - Pestivirus
4 - Hepacivirus
5 - Bovine viral diarrhea virus
6 - Border disease virus
7 - Hog cholera virus
8 - Orf
9 - Immuno capture ELISA

منابع مورد استفاده

۱ – صدیقی نژاد. صغری ، ۱۳۷۵، بررسی اسهال ویروسی گاو /بیماری مخاطی در ایران: پژوهشی و سازندگی. شماره ۳۰، ب ۷۵ . ص ۱۲۷.

۲ – کارگر موخر،ر.۱۳۷۴، گزارش وجود و میزان شیوع بیماری اسهال ویروسی گاوان و بیماری مخاطی در گاوداریهای اطراف تهران. پژوهش و سازندگی، ۲۸(۸): صفحه: ۱۱۶-۱۱۲.

۳ –همت زاده. ف، ۱۳۸۰، ارزیابی به کارگیری آزمون ژل دیفوزیون در تشخیص سرمی‌اسهال ویروسی گاوان، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶ شماره ۱، ص ۲۶و۲۷.

۴ – همت زاده. ف، کیوانفر. ه، بادوام . م، ۱۳۸۱، ارزیابی تهیه پادتن فلئوروسنت جهت جستجوی پادگن‌های پستی ویروسی مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶ شماره ۴

۵ – همت زاده. ف، کجوری. غ، کارگرموخر.ر، روحانی.م ۱۳۸۰، بررسی سرمی‌بیماری اسهال ویروسی گاوان در استان چهارمحال و بختیاری، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶ شماره ۳، ص ۵۸-۹۲.

6-Afshar. A، Dulac. G.C، Dubuc. C، Howard. TH .1991; Comparative evaluation of the fluorescent antibody test and micro titer immunoperoxidase assay for detecting of bovine viral diarrhea virus from bull semen. Canadian Journal of Veterinary Research. 55: 1، pp: 91-93

7-Baker. J.C.1995;The clinical manifestations of Bovine viral diarrhea infection. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. Vol 11.3، pp: 425-445.

8-Bolin. S-R .1995;Pathogenesis of Mucosal disease، Veterinary Clinics of North America: Food Animal practice، Vol 11.3، pp: 489-499.

9-Brock. K. V. 1995;Diagnosis of Bovine viral diarrhea virus infection. Veterinary Clinics of North America: Food Animal practice. Vol 11.3، pp: 549-561.

10-Fenton. A، Entrican. G، Herring. JA، Nettleton. PF.1990;An ELISA for detecting pestivirus antigen in blood of sheep persistently infected with Border disease virus. Journal of Virological Methods. (27) 3. 253.

11-Houe. H.1995;Epidemiology of Bovine viral diarrhea virus. Veterinary Clinics of North America: Food Animal practice. Vol 11.3، pp: 521-547.

12-Moening. V، Liess. B.1995;Pathogenesis of intrauterine infections with Bovine viral diarrhea virus، Veterinary clinics of North America: Food Animal practice، Vol 11.3، pp: 477-487.

13-Murphy. F.A، Gibbs. E. P. J، Horzine. K. M. C، Studdert. M. J.1999;Veterinary virology. Academic press. pp: 555-569.

14-Nettleton PF، Entrican G. 1995. Ruminant pestiviruses. Br Vet J. 1995 Nov-Dec;151(6):615-42

15-Paton. D.J.1995;Pestivirus diversity. J. Com. Path. (112) pp: 215.

16-Pistle. J، Wolf. G، Wolf Meyer. A، Beer. M، Pichler. J، Kaaden OR .1997; Rapid detection of bovine viral diarrhea virus-P80/125 in blood leukocytes of viremic cattle with immunofluoresecence microscopy. Floria – Veterinaria، 41: 1-2، pp: 21-24.

17-Potgieter. L. N. D، 1995، Immunology of Bovine viral diarrhea virus. Veterinary clinics of North America: Food Animal Practice. (11). 3، pp: 501-520.

18-Timoney. J. F، Gillespie. J.H، Scott. F.W، Barlough، J.E، 1994; Hagan and Burner's Microbiology and infections diseases of domestic animals. 9 th Ed

19-Werdin. RE، Ames. TR، Goyal. SM، Devris. BP.1989;Diagnostic investigation of Bovine viral diarrhea infection in a Minnesota dairy herd. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation، 1:1، pp: 57-61.