

بررسی میزان شیوع پادتن‌های ضد ویروس‌های BLV, BH4, IBR, BVD, PI3 در گاومیش‌های مستقر در مرکز تهیه اسپرم در ارومیه

- روحانی کارگرخور، عضو هیأت علمی مؤسسه رازی، کرج
- سعید بکایی، عضو هیأت علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
- محسن مشکوہ، کارشناس ارشد سازمان دامپزشکی کشور

تاریخ دریافت: اردیبهشت ماه ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: شهریور ماه ۱۳۸۱

✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 55 PP: 24-27

Seroepidemiological survey for antibodies against BLV, BH4, BVD, IBR, PI3 among buffalo in center of buffalo sperm preparation in oromieh.

By: R. Kargar Moakhar, Razi Vaccine & Serum Research Institute, Tehran, Iran. S.Bokaei, Veterinary Medicine Faculty, University of Tehran, Iran. M.Meshkot, Veterinary Organization , Tehran, Iran.

The prevalence of antibody to the viruses of bovine diarrhoea, bovine herpes virus 1, bovine herpes virus 4, parainfluenza virus type 3 and bovine leukemia virus were detected. The prevalence of antibody to the viruses of bovine virus diarrhoea (BVD), bovine herpes virus, (IBR), bovine herpes virus 4 (BH4), Parainfluenza virus type 3 (PI3) and bovine leukemia virus (BLV) was determined in center for buffalo sperm preparation in Oromieh by examining 121 serum sample collected in 1380 based on SN, NI and AGPT. Antibody to BVD virus was found in 13 sample. Antibody to IBR was found in 5 samples. Antibody to BH4 was not found in any samples. Antibody to PI3 virus was widespread and found in 48 samples. And finally antibody to BLV was found in 8 samples.

Keywords: Buffalo, Oromieh, Bovine Virus Diarrhoea, Bovine Herpes Virus 1, Boving Herpes Virus 4, Parainfluenza Virus Type 3 and Bovien Leukemia Virus.

چکیده

نمونه سرم جمع آوری شده از ۱۲۱ راس گاومیش با سن ۴ ماه تا ۱۴ ساله که تمامی آنها از سلامتی ظاهری بخوردار بوده‌اند جهت تعیین پادتن علیه ویروس‌های

Parainfluenza type3 (PI3) Bovin Virus Diarrhoea (BVD)

Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR)

Bovine Herpes4 (BH4)

Bovine leukemia Virus (BLV)

مورد آزمایش سرونوتروالیزاسیون (SN) و ژل دیفوزن (AGPT) قرار گرفت. آزمایشات انجام گرفته نشان داد که در مجموع ۸ نمونه سرم حاوی پادتن علیه (BLV) (۵ نمونه به تنها یی و ۳ نمونه همراه با (PI3) و ۱۳ نمونه سرم حاوی پادتن علیه ویروس (۳ نمونه به تنها یی و ۱ نمونه به همراه (PI3) و ۴۸ نمونه سرم حاوی پادتن علیه ویروس (۳ نمونه به تنها یی و ۱۰ نمونه به همراه پادتن (BLV) و ۲ نمونه به همراه پادتن (BVD) و ۳ نمونه به همراه پادتن (IBR) و ۵ نمونه سرم حاوی پادتن علیه ویروس (PI3) بوده و نداشتند. هیچیک از سرم‌ها، پادتن علیه ویروس (BH4) نداشتند. کلمات کلیدی: گاومیش، ارومیه، پارانفلوآنزا تیپ ۳، اسهال ویروسی گاوان، تورم بینی و نای عفونی گاوان، لکوز گاوان، هرپس ویروس گاوی.^۴

مقدمه

بررسی بیماریهای فوق به طور پراکنده در موسسه رازی انجام شده است (۱، ۲، ۳، ۴، ۵). به طور کلی با توجه به حساسیت های تقریباً مشابه گاومیش در ابتلاء به بیماریهای مورد نظر موارد زیر در مورد گاو به عنوان مدل طرح می گردد.

عفونت گاوهای با ویروسهای BVD, IBR, BH4 و BLV, BVD, PI3 بسیار مهم می باشد و آلدگی به این ویروسها خسارات عمده ای را به صفت دامپروری کشور وارد ساخته است (۲، ۳، ۴، ۵). شواهد نشان می دهد که این بیماریها در کشور ما غیر بومی بوده و در سالهای نه چندان دور با ورود گاوهای اصلی، اسپرم و اختلال اسایر مواد بیولوژیک از خارج از کشور و به دلیل فراهم نبودن ابراجه کنترل دقیق در مبادی ورودی (قرنطینه ها و...) در سطح گشتور گسترش یافته و خسارات جبران ناپذیری را بر پیکره اقتصاد کشور وارد ساخته است (۶، ۷).

تحقیقات نشان داده است که ابتلاء گاوهای به ویروسهای فوق به جز ویروس PI3 باعث بقای عفونت برای تمام عمر شده و گاهی به علت شرایط خاص و بروز استرس در این دامها ایجاد بیماری می کند (۴، ۵).

با توجه به اینکه عفونت ویروسهای مذکور سبب می شود که در سرم دامها پادتن خنثی کننده و پرسی پستان علیه ویروسهای فوق ایجاد شود (۷) و با توجه به عدم استفاده از واکسن علیه این گروه از ویروسها در گاومیش های فراوانی نسبی گاومیش های دارای پادتن علیه IBR از بقیه کمتر است همچنین ملاحظه می گردد که علیه ویروس BH4 هیچگونه پادتنی بسته به این ترتیب با آزمایشات سرولوژی از جمله AGPT می توان مبتلایان را شناسایی کرد. این بررسی برای اولین بار در ایران بر روی گاومیش صورت گرفته و تمامی گاومیش های مرکز فوق الذکر مورد آزمایش های سرمی قرار گرفتند.

مواد و روش کار

الف - مواد

۱- سرم: از کلیه ۱۲۱ نمونه دامهای موجود شامل گاومیش های نر و ماده و گوساله گاومیش های مرکز تولید اسپرم گاومیش ارومیه خونگیری به عمل آمد و سپس سرم ها به طور استریل جدا سازی شد و تازمان آزمایش در فریزر ۲۰ درجه نگهداری گردید.

۲- ویروس، پادگن، سرم مثبت و منفی: ویروسهای BH4, TBR, BVD, PI3 در بخش ویروس شناسی موسسه رازی از نمونه های مرضی جدا سازی شده و پس از آزمایشات تکمیلی جهت تایید به مراکز بین المللی ارسال که مورد تایید قرار گرفتند. هر چهار ویروس به Reed & meunch روش تیترز و جهت آزمایش SN RCQ تیترز ۲۵۰ TCID ۵۰ / ml وجود دارد به کار گرفته شد.

۳- پادگن BLV و سرمهای مثبت از آزمایشگاه های رفائن دریافت گردید و از سرم جنین گوساله به عنوان سرم منفی در آزمایشات استفاده شد.

۴- سلول: تیره سلولی کلیه گوساله که در بخش ویروس شناسی دام موسسه رازی تهیه شده و حساسیت نسبتاً خوبی به ویروسهای BVD, IBR, PI3 دارد برای

انجام تست SN مورد استفاده قرار گرفت.
۵- آگارژل به همراه کیت ژل دیفوزیون BLV (متعلق به شرکت مربو فرانسه) موجود بود.

۶- پلیت کش سلولی: از پلیت های پلاستیکی استریل یکبار مصرف که حاوی ۲۴ گوده تخت است استفاده گردید.

۷- انکوباتور: از انکوباتور معمول و CO₂ دار موجود در بخش ویروس شناسی استفاده شد.

ب - روش کار

۱- ژل دیفوزن: برای نشان دادن پادتن علیه ویروس BLV از روش ژل دیفوزن در بوداپتری (مطابق رفائل شماره ۳) استفاده گردید.

۲- سرونوترولیزاسیون: به منظور تعیین حضور پادتن علیه ویروسهای BVD, IBR و BH4 از روش بتا سرونوترولیزاسیون (SN) در روی پلیت ۲۴ گوده یکبار مصرف (مطابق رفائل شماره ۸) استفاده گردید.

۳- آندیس نوتزالیزان: به منظور تعیین حضور پادتن علیه ویروس PI3 از آزمایش آندیس نوتزالیزان بر اساس رفائل شماره ۵ استفاده گردید.

نتایج

بر اساس تجزیه و تحلیل انجام شده مطابق روش کار نتایج بدست آمده در جداول ۱ تا ۴ آمده است.

بر اساس جدول فوق ملاحظه می گردد که فراوانی نسبی گاومیش های دارای پادتن علیه PI3 (۴۰/۳٪) از سایرین بیشتر و فراوانی نسبی گاومیش های دارای پادتن علیه IBR از بقیه کمتر است همچنین ملاحظه می گردد که علیه ویروس BH4 هیچگونه پادتنی بسته نگهداری می شوند. در ارتباط با حضور پادتن علیه ویروس BVD-MD در گاومیش های ارومیه این اولین بیشتر باشد. علیه این گاومیش های ارومیه آنaloگی به ویروس PI3 می باشد. علیه این گاومیش های ارومیه تراکم گاوداری ندارد و شاید میزان آنaloگی ۴۰/۵٪ به دلیل هوای سرد ناحیه باشد که اجرای گوساله های گاومیش در محیط های بسته نگهداری می شوند. در ارتباط با حضور پادتن علیه ویروس BVD-MD در گاومیش های ارومیه این اولین گزارش است که حضور پادتن در سرم این دسته از حیوانات را در ایران نشان می دهد ولی باید گفته که تحقیقات انجام یافته در ایران روی سرم گاوهای نشان داده است که میزان حضور پادتن در گله های بین ۹۰ تا ۹۵ درصد بوده و این میزان در اطراف تهران به طور کلی حدود ۵۸/۸ درصد می باشد. شاید دلیل حضور پادتن در بعضی گله های تا حدود ۹۰ درصد ناشی از حضور دامهای PI در گله های باشد. میزان حضور پادتن در سرم های گاومیش بدست آمده در این آزمایش ۱۲ مورد یعنی ۱۰/۷ درصد می باشد که رقم نسبتاً پایین است که شاید علت آن عدم حضور دامهای PI در گله باشد. البته بهتر است دامهای فاقد پادتن از نظر پادگن تست شده و در صورت مشاهده موارد PI حتماً از گله حذف گردد. در ارتباط با پادتن علیه IBR حتماً این اولین گزارش مکتوب در ارتباط با عفونت این دسته از حیوانات با ویروس IBR در ایران می باشد. همانطور که نتایج مشخص است در مجموع ۵ نمونه سرم حاوی پادتن علیه ویروس IBR بوده که ۴ نمونه آن مربوط به گاومیش های ماده و مسن مرکز ۷ تا ۱۴ ساله و یک نمونه مربوط به نر ۶ ساله می باشد.

بر اساس آخرین تحقیقات انجام یافته در ایران (۸) میزان آنaloگی سرمی در گاوهای در حدود ۳۰/۵ درصد می باشد که رقم نسبتاً بالایی است و با مقایسه میزان آنaloگی در گله های گاو و گاومیش به نظر می رسد که گله گاومیش آزمایش شده آنaloگی نسبتاً پایین ۱ درصد با ویروس دارد و بهتر است که این موارد مثبت سریعاً از گله

جدول ۱: توزیع فراوانی مطلق و نسبی حضور پادتن علیه ویروسهای BLV، BVD، PI^۳ و BH^۴ در گاومیش های مرکز تولید اسپرم گاومیش ارومیه

| جمع | | ندارد | | دارد | | حضور پادتن | نوع پادتن (بدون درنظر گرفتن پادتن های دیگر) |
|------|---------|-------|---------|------|---------|--|---|
| درصد | فراوانی | درصد | فراوانی | درصد | فراوانی | | |
| ۱۰۰ | ۱۲۱ | ۶۰/۰ | ۷۳ | ۴۰/۰ | ۴۸ | پادتن علیه ویروس پارانفلوآنزا تیپ (PI ^۳) | |
| ۱۰۰ | ۱۲۱ | ۹۳/۴ | ۱۱۳ | ۶/۶ | ۸ | پادتن علیه ویروس لکوز گاوی (BLV) | |
| ۱۰۰ | ۱۲۱ | ۸۹/۳ | ۱۰۸ | ۱۰/۷ | ۱۳ | پادتن علیه پستی ویروس (BVD) | |
| ۱۰۰ | ۱۲۱ | ۹۵/۹ | ۱۱۶ | ۴/۱ | ۵ | پادتن علیه ویروس تورم عفونی بینی و نای گاوان (IBR) | |
| ۱۰۰ | ۱۲۱ | ۱۰۰ | ۱۲۱ | - | - | پادتن علیه ویروس هرپس ۴ گاوی (BH ^۴) | |

جدول ۲: توزیع فراوانی مطلق و نسبی حضور پادتن علیه ویروسهای BLV، BVD، PI^۳ و BH^۴ به تنهایی و به طور همزمان در گاومیش های مرکز تولید اسپرم گاومیش ارومیه

| ردیف | حضور پادتن علیه دو ویروس به طور همزمان | فراءانی | درصد |
|------|--|---------|------|
| ۱ | پادتن علیه ویروس پارانفلوآنزا تیپ (PI ^۳) | ۳۳ | ۲۷/۳ |
| ۲ | پادتن علیه ویروس لکوز گاوی (BLV) | ۵ | ۴/۱ |
| ۳ | پادتن علیه پستی ویروس (BVD) | ۳ | ۲/۵ |
| ۴ | پادتن علیه ویروس تورم عفونی بینی و نای گاوان (IBR) | ۳ | ۲/۵ |
| ۵ | پادتن علیه ویروس هرپس ۴ گاوی (BH ^۴) | - | - |
| ۶ | پادتن علیه BVD و PI ^۳ | ۱۰ | ۸/۳ |
| ۷ | پادتن علیه BLV و PI ^۳ | ۳ | ۲/۵ |
| ۸ | پادتن علیه IBR و PI ^۳ | ۲ | ۱/۷ |
| ۹ | بدون پادتن | ۶۲ | ۵۱/۲ |
| | جمع | ۱۲۱ | ۱۰۰ |

جدول شماره ۳: توزیع فراوانی مطلق و نسبی حضور پادتن علیه ویروسهای BLV، BVD، PI^۳ و BH^۴ به تنهایی و به طور همزمان بر حسب جنس در گاومیش های مرکز تولید اسپرم گاومیش ارومیه

| جمع | | فقط پادتن | | PI3 + IBR | | PI3 + BLV | | PI3 + BVD | | IBR | | BVD | | BLV | | PI3 | | جنس | پادتن |
|-----|-----|-----------|----|-----------|----|-----------|----|-----------|----|-----|----|-----|----|-----|----|------|----|------|-------|
| % | Fr | % | Fr | % | Fr | % | Fr | % | Fr | % | Fr | % | Fr | % | Fr | % | Fr | | |
| ۱۰۰ | ۸۳ | ۵۱/۸ | ۴۳ | ۱/۲ | ۱ | ۲/۴ | ۲ | ۷/۲ | ۶ | - | - | ۳/۶ | ۳ | ۴/۸ | ۴ | ۲۸/۹ | ۲۴ | نر | |
| ۱۰۰ | ۲۸ | ۵۰/۰ | ۱۹ | ۲/۶ | ۱ | ۲/۶ | ۱ | ۱۰/۵ | ۴ | ۷/۹ | ۳ | - | - | ۲/۶ | ۱ | ۲۳/۷ | ۹ | ماده | |
| ۱۰۰ | ۱۲۱ | ۵۱/۲ | ۶۲ | ۱/۷ | ۲ | ۲/۵ | ۳ | ۸/۳ | ۱۰ | ۲/۵ | ۳ | ۲/۵ | ۳ | ۴/۱ | ۵ | ۲۷/۳ | ۲۳ | جمع | |

جدول شماره ۴: توزیع فراوانی مطلق و نسبی حضور پادتن علیه ویروسهای BH₄, BLV, PI₃, BVD, IBR به تنهایی
به طور همزمان بر حسب سن در گاوی مشیش های مرکز تولید اسپرم گاوی مشیش ارومیه

| جمع | | فاقد پادتن | | PI ₃ + IBR | | PI ₃ + BLV | | PI ₃ + BVD | | IBR | | BVD | | BLV | | PI ₃ | | پادتن | |
|-----|-----|------------|----|-----------------------|----|-----------------------|----|-----------------------|----|------|--------|-----|--------|-----|----|-----------------|----|---------|--|
| % | Fr | % | Fr | % | Fr | % | Fr | % | Fr | % | F r | % | F r | % | Fr | % | Fr | سن(ماه) | |
| .. | ۱۲ | ۹۱/۷ | ۱۱ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | ۸/۳ | ۱ | ۰-۶ | | | |
| .. | ۵۵ | ۵۴/۵ | ۳۰ | - | - | ۱/۸ | ۱ | ۱۴/۵ | ۸ | - | - | ۵/۵ | ۳ | ۵/۵ | ۳ | ۱۸/۲ | ۱۰ | ۷-۱۲ | |
| .. | ۳۱ | ۳۲/۳ | ۱۰ | - | - | ۶/۵ | ۲ | ۶/۵ | ۲ | - | - | - | - | ۶/۵ | ۲ | ۴۸/۲ | ۱۵ | ۲۵-۶۰ | |
| .. | ۲۳ | ۴۷/۸ | ۱۱ | ۸/۷ | ۲ | - | - | - | - | ۱۳/۰ | ۳ | - | - | - | - | ۳۰/۴ | ۷ | ۶۱-۱۶۸ | |
| .. | ۱۲۱ | ۵۱/۲ | ۶۲ | ۱/۷ | ۲ | ۲/۵ | ۳ | ۸/۳ | ۱۰ | ۲/۵ | ۳ | ۲/۵ | ۳ | ۴/۱ | ۵ | ۲۷/۳ | ۳۳ | جمع | |

Inst. Razi, 27, 21-36.

7 - Hazrati, A. 1977. Diagnosis and control of infectious bovine rhinotracheitis (IBR). Arch. Inst. Razi, 29, pp 3-40.

8 - Kargar Moakhar, R., Bokaei S., Akhavizadegan, M.A., Charkhkar S., and Meshkot M. 2001. Seroepidemiological survey for antibodies against infectious bovin rhinotracheitis and bovine herpes 4 viruses among cattle in different provinces of Iran. Arch. Razi, Inst. 52, 93-100.

طریق اسپرم به ندرت اتفاق می افتد و این در زمانی است که اسپرم الوده به خون باشد. اسپرم گیری از گواههای نر پیر احتمال ورود خون به داخل اسپرم را دارد به هر حال بهتر است که مرکز تهیه اسپرم فاقد دام آلوده علیه BLV باشد.

حذف شده و بعد از این گاوی مشیش هایی که می خواهد به مرکز وارد شوند از نظر IBR تست و در صورت حضور پادتن در سرمهشان از این کار ممانتع گردد. بهتر است گاوی مشیش های مرکز (موارد منفی) مجدداً در ۶ ماه آینده از نظر حضور پادتن علیه IBR تست شده و در صورت مشاهده موارد مشتب نسبت به حذف آن اقدام گردد. تا

بدین ترتیب گله مولد اسپرم از نظر IBR پاک بماند. در ارتباط با حضور پادتن در سرمه های گاوی مشیش علیه ویروس BH₄ باید گفت که ویروس BH₄ ویروسی است که در چند ساله گذشته از گاو در ایران جدا شده است و از دسته گاما هرپس ویروس ها است و بیماری ای آن به خوبی مشخص نشده است. آزمایشات انجام شده روی گاو (۸) نشان داده که میزان آلودگی به ویروس BH₄ در گاوداری های کشور در حدود ۴/۴٪ است که ۳/۴ آن هم زمان پادتن علیه IBR و BH₄ وجود دارد و فقط ۱/۳ سرمه ها فقط حاوی پادتن علیه BH₄ هستند.

احتمالاً این ویروس با ورود گواههای خارجی وارد کشور شده است زیرا که بیچ ردیابی از آن در گاوی مشیش های دیده نمی شود و هچیک از ۱۱۲ سرم آزمایش شده گاوی مشیش پادتن علیه ویروس BH₄ نشان نداده است. با توجه به تحقیق به عمل آمده در رابطه با سرولوژی بیماری لکوز آنزوتیک در مرکز تهیه اسپرم گاوی مشیش ارومیه می توان نتیجه گرفت که میزان آلودگی به این بیماری حدود ۶/۶ درصد است یعنی گاوی مشیش نر و ۲ گاوی مشیش ماده می باشد. میزان آلودگی در گاو در بررسی های بد عمل آمده ارقام متفاوتی را نشان می دهد (۳)، و میزان آلودگی از ۱/۷ درصد تا ۱۷ درصد در دامداری های آلوده متفاوت است. تحقیقات انجام شده روی گواههای بومی آلودگی در این دسته از دامها را نشان نداده است (۳). به نظر می رسد که بیماری از طریق دام و یا محصولات دامی آلودگی وارد کشور شده باشد. اینکه چه طور گاوی مشیش های مرکز چهار بیماری شده اند (۱) قابل بحث است. با این حال باید گفت که انتقال بیماری از

منابع مورد استفاده

- ۱- کارگر موخر، روحانی، قابوسی، پرویز، ۱۳۷۴. گزارش وجود و میزان شیوع بیماری BVD/MD در گاوداری های اطراف تهران. پژوهش سازندگی، ۲۸، صفحات ۱۱۶-۱۲۱.
- ۲- کارگر موخر، روحانی، قابوسی، پرویز، حسامی، محمد. تقی پور بازگانی، تقی اولین گزارش جداسازی هرپس ویروس تب ۴ گاوی از نمونه های مرضی در ایران. پژوهش و سازندگی، ۳۱، صفحات ۱۲۰ و ۱۲۱.
- ۳- کارگر موخر، روحانی، حسامی، محمد، اهوازی، پرویز، قابوسی، پرویز. ۱۳۷۵. بررسی سروابیدمیولوزی بیماری لکوز آنزوتیک گاوان (EBL) در ایران. پژوهش سازندگی، ۳۰، صفحات ۱۶۴-۱۶۷.
- 4- Anderson E.C. and Rowe L.W., 1998. Epidemiol. Infect. The prevalence of antibody to the viruses of bovine virus diarrhoea, bovine herpes virus 1, rift valley fever, ephemeral fever and blue tongue and to leprosy in free - ranging wildlife in Zimbabwe, 121, 441-449.
- 5- Hazrati A., Roustai M., Khalili Kh, and Dayhim F. 1976. Serological survey for antibodies against infectious bovine rhinotracheitis and parainfluenza 3 viruses among cattle in Iran. Arch. Inst. Razi, 28, 45-49.
- 6- Hazrati A., and Amjadi A. R. 1975. The isolation and identification of infectious bovine rhinotracheitis virus in Iran. Arch.