



نشریه آموزشی - پژوهشی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

فصلنامه تحقیقات کاربردی در علوم دامی

شماره ۲۴، پاییز ۱۳۹۶

ص: ۲۹-۳۴

ردیابی سرمی ویروس تب برفکی در شترهای استان های جنوب کشور

• محمد عزیزی

دامپزشک عمومی سازمان دامپزشکی - شیراز

• محسن قانع (نویسنده مسئول)

استادیار بخش علوم درمانگاهی دانشگاه شیراز

• احمد رضا صنعتی

دامپزشک عمومی سازمان دامپزشکی - شیراز

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۷۶۸۸۸۶۲۱

Email: Mohammad.azizi1389@gmail.com

چکیده:

بیماری تب برفکی یکی از مهم ترین بیماری های برون مرزی در حیوانات است که همه گیری های آن در ایران عمدتاً با گله های گاو و گوسفند مرتبط است. با این وجود، اطلاعات در مورد نقش بالقوه ی شترهای جنوب ایران از اپیدمیولوژی ویروس بیماری تب برفکی اندک است. ۱۸۴ نمونه خون شتر از سه استان جنوبی کشور (فارس، بوشهر، هرمزگان) جمع آوری شدند و به منظور ردیابی آنتی بادی های تولید شده در برابر 3ABC که یک پروتئین غیر-ساختاری ویروس تب برفکی است، از کیت تجاری و در دسترس ID Vet® FMDV استفاده شد. هیچ کدام از ۱۸۴ نمونه از نظر آنتی بادی ضد 3ABC مثبت نبودند. سرم ها مربوط به شترها با سن های مختلف بودند که از ۱۸ گله ی موجود در مناطق مختلف جمع آوری شده بودند. گزارش های مختلفی از حساسیت پایین شترسانان به ویروس عامل بیماری تب برفکی وجود دارد. مطالعه ی حاضر نشان داد، شترهایی که در کنار نشخوارکنندگان کوچک نگهداری می-شدند، با عامل ویروس بیماری تب برفکی آلوده نبودند.

واژه های کلیدی: آزمون الیزا، بیماری تب برفکی، جنوب ایران، شتر یک کوهانه.

Applied Animal Science Research Journal No 24 pp: 29-34

Serological Detection of Foot and Mouth Disease (FMD) in Camels of South of Iran (Fars, Bushehr and Hormozgan Province)

By: M. Azizi¹, M. Ghane², A. R. Sanati¹

1: Doctor of Veterinary Medicine. Shiraz

2: Assistant Prof. of the Dept of Clinical Since of Shiraz U.

Foot-and-mouth-disease (FMD) is one of the most important trans-boundary animal diseases in Iran outbreaks occurring mostly in cattle and small ruminants. However, there is scarcity of information on the potential role of camels in the epidemiology of FMD virus south of Iran. A total of 184 camel sera collected from three south provinces of Iran (Fars, Bushehr and Hormozgan) and there were screened for the presence of antibodies produced against 3ABC non-structural proteins (NSP) for foot-mouth-disease virus (FMDV) using a commercially available kit ID Vet® FMDV NSP. None, (0%) out of the 184 sera samples were tested positive for 3ABC NSP ELISA. Sera were collected from different ages and locations and from 18 herds. Many reports show that new and old world camelids possess a low susceptibility to (FMD), and do not appear to be long-term carriers of the foot and mouth disease virus (FMDV). This study showed camels not infected by FMDV in contact with small ruminants.

Key words: Foot-and-mouth-disease (FMD), Elisa test, One hump camel, South of Iran

مقدمه

خوبی احساس می شود. با توجه به همه گیری های فراگیر سال های اخیر در کشور و عدم مشاهده موارد بالینی بیماری تب برفکی در جمعیت شتر کشور و منطقه، این مطالعه طراحی شده است تا حتی الامکان رخداد شکل تحت بالینی بیماری و ایجاد آنتی بادی ضد ویروس در جمعیت شتر استان های جنوبی کشور مورد بررسی قرار گیرد. با توجه به اهمیت نقش دام های حامل ویروس بیماری تب برفکی در جمعیت و عدم وجود گزارش مستند در خصوص وضعیت بیماری در جمعیت شتر استان های جنوبی کشور به عنوان قطب پرورش شتر کشور و از طرف دیگر نگهداری همزمان شتر و دام های اهلی مثل گوسفند و بز در کنار هم و کوچ سالانه آنها، این مطالعه شاید بتواند به اهمیت و توجه بیشتر به بیماری در سایر دام های اهلی مثل شتر بیافزاید.

ویروس بیماری تب برفکی می تواند صنعت دامپروری سرتاسر جهان را تحت تاثیر قرار دهد. بیماری تب برفکی اولین بیماری دامی با عامل ویروسی بود که کشف شد. وحشناک ترین بیماری در کشورهایی است که صنعت دامی بزرگ و پیشرفته دارند. حتی طاعون که بالاترین مرگ و میر را متعاقب بیماری ایجاد می کند پس از این بیماری قرار می گیرد. بیش از ۵۰ کشور از ۱۶۲ کشور عضو دفتر بین المللی همه گیری های دامی (OIE)، بدون استفاده از واکسن موفق به ریشه کنی بیماری شده اند (Wernery and Kaaden, 2004). با این حال بیماری در کشور ما بومی است و سالانه باعث خسارت اقتصادی شدیدی به صنعت دامپروری کشور می شود. بنابراین لزوم انجام تحقیقات و پژوهش های گسترده روی جنبه های گوناگون این بیماری نظیر اپیدمیولوژی، راه های انتشار، تشخیص، شناسایی دام های بیمار و حامل، کنترل و پیشگیری به

مواد و روش‌ها جمع‌آوری نمونه

در فاصله زمانی تیرماه سال ۱۳۹۴ تا تیر ماه ۱۳۹۵ از ۱۸۴ نفر شتر در سه استان فارس، بوشهر و هرمزگان و از ۱۸ گله شتر نمونه-گیری صورت گرفت. نمونه خون کامل از ورید وداج با استفاده از سرنگ ۱۰ میلی‌لیتری و با رعایت استریلیتی اخذ شد و به لوله‌های آزمایش فاقد ماده ضدانعقاد منتقل و کدگذاری شد. پس از انتقال لوله‌های خون به آزمایشگاه بخش داخلی دام‌های بزرگ دانشکده دامپزشکی، با استفاده از سانتریفیوژ (۱۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) سرم خون‌ها جدا گردید و تا زمان انجام آزمایش جهت جستجوی پادتن ضدویروس تب‌برفکی در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. اطلاعات شترهای نمونه‌گیری شده شامل سن، جنس، محل و چگونگی نگهداری، ارتباط با دام‌های دیگر در پرسش‌نامه ثبت شدند.

انجام آزمون الیزا

کیت الیزای استفاده شده در این مطالعه قادر به شناسایی آنتی‌بادی‌های ترشح شده علیه پروتئین غیرساختاری ویروس تب‌برفکی است. در صورت وجود آنتی‌بادی، کمپلکس آنتی‌ژن-آنتی‌بادی تشکیل می‌شود. پس از یک مرحله شستشوی چاهک‌ها با محلول شستشو، کانژوگه ضد پروتئین غیرساختاری ویروس تب‌برفکی (HRP) به چاهک‌ها اضافه می‌شود. در صورت وجود آنتی‌بادی، کمپلکس آنتی‌ژن-آنتی‌بادی-کانژوگه - HRP تشکیل می‌شود. متعاقب حذف کانژوگه اضافی پس از شستشو، محلول سوبسترا (TMB) اضافه می‌گردد. میزان رنگ تولید شده به مقدار حضور آنتی‌بادی در نمونه سرمی بستگی داشته که در صورت فقدان آنتی‌بادی، بعد از اضافه کردن محلول متوقف‌کننده، رنگ آبی به زرد تغییر رنگ می‌یابد و در صورت وجود آنتی‌بادی در نمونه چاهک بی‌رنگ می‌شود. میکروپلیت‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت و نتایج تفسیر می‌شوند. در مطالعه حاضر از ۱۸۴ نفر شتر نمونه‌گیری شده و آزموده شده با کیت الیزای رقابتی چندگونه‌ای، هیچ مورد مثبتی مشاهده نشد.

نتایج و بحث

در مورد حساسیت یا عدم حساسیت شترها به این بیماری نظریه‌های متعددی وجود دارد. مطالعات اولیه شیوع بیماری تب‌برفکی را در شتر گزارش کرده‌اند. این مشاهدات بر اساس نشانه‌های بالینی صورت گرفته است. پرینگل (۱۸۸۰) گزارش کرد که این بیماری در شتر گسترش زیادی دارد و ضایعات پا غالب‌ترین نشانه بیماری است و شیوع بیماری منجر به ضایعات را روی لب‌ها، مخاط دهان و پاها می‌شود (Pringle, 1880). در مطالعات تجربی روی شتر توسط ناصر و همکاران (۱۹۸۰) و موسی (۱۹۸۸) به دنبال آلودگی از راه داخل بینی با سروتیپ O ویروس تب‌برفکی، علائم خفیف یا پنهان دیده شد (Nasser, et al., 1988; Moussa, 1988). گزارش‌هایی از عربستان سعودی توسط حافظ و همکارانش (۱۹۹۳) روشن کرد که به دنبال آلودگی از راه داخل بینی به وسیله سویه مصری (Sharkia 0 / 72 / 2) علائم بالینی و نیز تغییر سرمی در شترهای جماز آلوده مشاهده نشد (Hafez, Farag and Al-Mukayel, 1993). فقط ریچارد (۱۹۷۹) توانست پادتن‌هایی علیه ویروس تب‌برفکی سروتیپ O، C و SAT2 را در ۲/۶ درصد از سرم‌های شترهای نیجریه تشخیص دهد (Richard, 1979). اما موسی (۱۹۸۸)، ورنری و کادن (۱۹۹۵)، عقیده دارند که موارد شناسایی شده مهارکننده غیراختصاصی‌اند که غالباً در سرم شتر دیده می‌شوند و در برابر پادتن‌های اختصاصی مقاومت می‌کنند (Wernery and Kaaden, 1995; Moussa, 1988). بر اساس مطالعه ورنری (۲۰۰۴)، شترها به جدایه O امارت ۹۹ حساس نبودند و هیچ علائم بالینی یا پاسخ سرمی را نشان ندادند (Wernery and Kaaden, 2004). تنها دو مطالعه در مصر نشان دادند که بیش از ۲۰ درصد جمعیت شترها به ویروس آلوده شده‌اند و تیترا سرمی دارند (Wernery and Kaaden, 1995; Wernery and Kaaden, 2004). گزارش‌های متعددی در خصوص بررسی حضور آنتی‌بادی ضدویروس تب‌برفکی در شترهای تک‌کوهانه وجود دارد که در برخی از آن‌ها موارد مثبتی یافت شده و در برخی یافت نشده است. به نظر می‌رسد الیزا، آزمون سرمی بهتری برای بررسی‌های سرمی نسبت به سایر آزمون‌ها باشد. جدول زیر مطالعات مختلف سرمی تا سال ۲۰۰۴ را نشان می‌دهد.

جدول ۱- مطالعات مختلف سرمی تا سال ۲۰۰۴ (Wernery and Kaaden, 2004)

Authors (Year)	Country	Serotypes	Sera tested	Positive (%)	Test	Endemic
Richard (1979)	Ethiopia	A, O, SAT _{1,2}	87	2.6	VNT ^a	Yes
Hedger et al. (1980)	Oman	A, O, C, SAT ₁ , Asia ₁	203	Nil	VNT	Yes
Moussa et al. (1986a)	Egypt	O	1755	5.4	VNT	Yes
Paling et al. (1979)	Kenya	C, O, SAT ₂	88	Nil	VNT	Yes
Abou Zaid (1991)	Egypt	O	536	Nil	AGID ^b	Yes
		O	536	10.6	ICFT ^c	
Hafez et al. (1993)	Egypt	O	364	Nil	ELISA	
		O	536	23.5	ELISA	
Hafez et al. (1993)	Saudi Arabia	O	650	Nil	VNT	Yes
Moussa and Youssef (1998)	Egypt	O	169	24.3	ELISA	Yes
Farag et al. (1998)	Saudi Arabia	A, O	25	Nil	VNT, AGID	Yes
Wernery, pers. comm. (2003)	U.A.E.	O	374	Nil	ELISA	Yes
Younan, pers. comm. (2003)	Kenya	O	324	Nil	ELISA	Yes

^a Virus Neutralisation Test.

^b Agargel Immunodiffusion Test.

^c Indirect Complement Fixation Test.

چندین مقاله‌ی علمی در مورد تولید آنتی‌بادی هومورال در شتر- های تک کوهانه در تحقیقات میدانی نشان می‌دهد که همگی آن- ها در تناقض هستند. در برخی از آن‌ها آنتی‌بادی تشخیص داده شده است و در برخی دیگر خیر. در اکثر تحقیقات سرولوژی سرم حیواناتی که به صورت مخلوط با گاو، گوسفند، بز و یا حتی گیاه- خواران وحشی که همگی چرای آزاد داشته‌اند، تهیه شده است. در شترهای تک کوهانه اگرچه آن‌ها دائماً و به صورت روزانه با حیوانات بیمار در ارتباط بوده‌اند، هیچ‌گونه علامت بالینی وجود نداشته است. از سوی دیگر در ارتباط با شترهای تک کوهانه تا به حال تنها دو گزارش از تحقیقات میدانی وجود دارد که جداسازی ویروس صورت گرفته است. مطالعات تجربی نیز تنها بر روی تعداد کمی شتر، آن هم در تنها یک کشور و با یک سویه انجام شده است. نتایج در مجلات شناخته شده اندک است و از طرفی طراحی و اجرای آزمایش‌ها تجربی ضعیف بوده‌اند، بنابراین نتیجه‌گیری در این مورد جای سوال دارد. با توجه به این تحقیقات به نظر می‌رسد که پس از القای تجربی عفونت یا نگهداری دام به صورت بسته در ارتباط با دام‌های مبتلا می‌تواند بیماری ایجاد شود اما نمی‌تواند به عنوان یک عامل خطر برای انتقال بیماری به سایر گونه‌های حساس مطرح باشند. در حال حاضر به نظر نمی‌رسد که شترهای تک کوهانه ناقل باشند زیرا پس از روز ۱۴

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۰ در سودان صورت پذیرفت در گونه‌های مختلف با کیت‌های الیزای هر سروتیپ، در گاو ۷۹ درصد آلودگی و در گوسفند و بز ۲۵ درصد آلودگی دیده شد در حالی که هیچ مورد مثبت در سرم شترها مشاهده نشد (Habiela, *et al.*, 2010). یوسف و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی وجود آنتی‌بادی علیه پروتئین‌های غیرساختاری با استفاده از کیت الیزای چند گونه‌ای، در سرم ۳۷۶ نفر شتر، تنها ۲۴ نفر شتر را آلوده یافتند (Yousef, Mazloum and Al-Nakhli, 2012). در بررسی بیشتر آن‌ها مشخص شد شترها آنتی‌بادی علیه سروتیپ O را دارند (Yousef, *et al.*, 2012). آبونا و همکاران (۲۰۱۳) در اتیوپی ۸ درصد از سرم شترهایی را که آزموده بودند حاوی آنتی‌بادی علیه پروتئین‌های غیرساختاری تب‌برفکی بودند (Abunna, Fikru and Rufael, 2013). در مطالعه اولارمو و همکاران (۲۰۱۵) در چهار منطقه شمال غربی و شرقی نیجریه با استفاده از کیت الیزای چندگونه‌ای برای جستجوی آنتی‌بادی ضد پروتئین‌های ساختاری ویروس، ۱۰/۸ درصد از سرم‌های شتر آزموده شده حاوی آنتی‌بادی ضد 3ABC بودند (Ularamu, *et al.*, 2015). مطالعات سرمی مختلف، وجود آنتی‌بادی علیه ویروس تب‌برفکی را در لاما و آلپاکا در آمریکای جنوبی نشان نداد (Rivera, Madevell, and Ameghino, 1987).

Habiela, M., Alamin, M. A., Raouf, Y. A., and Ali, Y. H. (2010). Epizootiological study of foot and mouth disease in the Sudan, the situation after two decades. *Veterinarski Arhiv*, 80: 11-26.

Hafez, S. M., Farag, M.A. and Al-Mukayel, Al. (1993). Are camels susceptible to natural infection with foot and mouth disease virus? Internal paper: National Agriculture and Water Research, Center Riyadh, Saudi Arabia.

Moussa, A. A. M. (1988). The role of camels in the epizootiology of FMD in Egypt. In: FAO. The Camel Development Research. Proceedings of Kuwait Camel Seminar, Kuwait, Oct. 20 – 23, pp. 162 –173.

Nasser, M., Moussa, A.A. Metwally, M.A. and Saleh, R.EL.S. (1980). Secretion and persistence of foot and mouth disease virus in faces of experimental infected camels and ram. *Journal of Egypt Veterinary Medicine Association*, 40: 3 – 13

Pringle, R. (1880). Foot and mouth disease in camels. *British Veterinary Journal*. 4: 125-130.

Richard, D. (1979). Etude de la pathologie du dromedaire dans la souprovence du Borana, Ethiopie, Study of the pathology of the dromedary in Borana Awraja, Ethiopia. *These Doctorales Veterinaire, Paris*, 75: 181 – 190.

Rivera, H., Madevell, B.R. and Ameghino, E. (1987). Serological survey of viral antibodies in the Peruvian alpaca (*Lama pacos*). *Journal of Veterinary Research*, 48: 189-191.

Ularanu, H. G., Wungak, Y. S. Lazarus, D. D. Woma, T. Y. Ehizibolo, D. O. Dogonyaro, B. B. Bwala, D. G. and Shamaki, D. (2015). Serological evidence of foot and mouth disease virus (FMDV) in camels (*Camelus dromedaries*) in Nigeria. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 7: 261-264.

متعاقب درگیری نمی‌توان ویروس را از مایع حلقی جدا کرد. بنابراین لزوم انجام تحقیقات در مورد اپیدمیولوژی بیماری تب برفکی در شترهای تک کوهانه مطرح است. این مطلب شامل انجام مطالعات تجربی با سویه‌های مختلف ویروس و تعداد بیشتری شتر آمیخته با گوسفند، گاو و بز نیز می‌باشد.

در ارتباط با شترهای دوکوهانه نیز هیچ دلیل قطعی از حساسیت آن‌ها به ویروس تب برفکی وجود ندارد و گزارش‌ها در مورد ابتلای آن‌ها به تب برفکی تنها بر اساس علائم بالینی بوده است.

در مورد شترهای دنیای جدید اطلاعات اندکی از اپیدمیولوژی بیماری تب برفکی از تحقیقات میدانی وجود دارد. تنها یک مورد آلپاکا علائم بالینی نشان داده است، اما نتایج مطالعات تجربی در شترهای دنیای جدید نشان می‌دهد اگرچه لاما و آلپاکا می‌توانند متعاقب ارتباط مستقیم با ویروس عفونی شوند اما آن‌ها نه تنها حیوانات خیلی حساسی نیستند بلکه حتی به عنوان یک خطر جدی در انتقال ویروس به دیگر شترسانان یا دیگر گونه‌های حساس نیز مطرح نمی‌باشند. لاما و شاید همه‌ی گونه‌های شترهای دنیای جدید ناقل نیستند زیرا ویروس نمی‌تواند بیشتر از ۱۴ روز در موکوس حلقی باقی بماند (Wernery and Kaaden, 2004).

با توجه به نتیجه حاصله از مطالعه ما و سایر مطالعات مشابه به نظر می‌رسد، بیماری تب برفکی در شترهای تک کوهانه منطقه ما بیماری شایع و همه‌گیری نیست و شترهای منطقه نیز نقشی در انتقال بیماری به سایر نشخوارکنندگان همراه ندارند.

منابع

Abunna, F., Fikru, S., and Rufael, T. (2013). Sero prevalence of foot and mouth disease (FMD) at dire dawa and its surroundings, Eastern Ethiopia, 11: 575-578.

David, M., Torres, A., Mebus, C., and Carrillo, B. (1993). Further studies on foot and mouth disease virus in the Llama (*Lama Glama*). In Proceedings of the Annual Meeting, United States Animal Health Association, 97: 280-280.

