

مطالعه فراوانی آنتی بادی ضد ویروس دیستمپر در سگ‌های روستایی غیر واکسینه حاشیه جنوبی دریای خزر

سمیه نمرودی^۱ امیر رستمی^{۱*} عباس برین^۱ کیوان مجیدزاده اردبیلی^۲

(۱) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران-ایران

(۲) مرکز تحقیقات زیست فن آوری تسنیم، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران-ایران

(دریافت مقاله: ۱۶ بهمن ماه ۱۳۹۱، پذیرش نهایی: ۲ اردیبهشت ماه ۱۳۹۲)

چکیده

زمینه مطالعه: طی سال‌های اخیر مرگ و میرهای دسته جمعی در جمعیت فک‌های دریای خزر رخ داده و پاتوژن اصلی شناخته شده در این مرگ و میرها ویروس دیستمپر سگ‌ها (CDV) شناخته شد. علیرغم تکرار این پدیده و حضور تعداد بسیار زیاد لاشه فک‌های تلف شده در نواحی ساحلی کشورهای دریای خزر، اطلاعات زیادی در خصوص نقش اپیدمیولوژیک این حیوان در بقاء ویروس دیستمپر سگ‌ها در مناطق ساحلی وجود ندارد. **هدف:** هدف از انجام این مطالعه فراوانی نسبی سگ‌های با تیتراژ مثبت آنتی بادی ضد ویروس دیستمپر، در سگ‌های غیر واکسینه روستایی حاشیه ساحلی جنوب شرق دریای خزر، بود. **روش کار:** طی مدت ۲ سال (۱۳۸۹ - ۱۳۸۷) نمونه‌های سرم، بصورت تصادفی از سگ‌های روستایی (۱۸۵ قلاده) جمع‌آوری شد. **نتایج:** میزان فراوانی نسبی سگ‌های با تیتراژ مثبت آنتی بادی ضد ویروس دیستمپر، رقت سرمی بالاتر از ۱/۳۲، در سرم سگ‌های این ناحیه ۵۵/۶٪ (۱۰۳ سرم از ۱۸۵ سرم) بود (۶۱-۹۵۴۷٪ CI): در این مطالعه تفاوتی از نظر میزان فراوانی نسبی سگ‌های با تیتراژ مثبت آنتی بادی بین جنس نر و ماده و سنین مختلف مشاهده نشد. همچنین بیشترین میزان فراوانی نسبی سگ‌های با تیتراژ مثبت، در فصل زمستان بود. **نتیجه‌گیری نهایی:** این نتایج بیانگر حضور ویروس در ناحیه بوده و همچنین حاکی از این است که سگ‌های ناحیه در گذشته در معرض ویروس قرار گرفته‌اند. این احتمال وجود دارد که درصد بالای تیتراژ مثبت آنتی بادی در سگ‌های روستایی ناحیه ناشی از تماس با لاشه فک‌های تلف شده بر اثر دیستمپر باشد. جمعیت بالای سگ‌های روستایی در این ناحیه جهت حفظ ویروس در مناطق روستایی کافی بوده و نتایج تحقیق حاکی از آن است که سگ‌های روستایی می‌توانند به عنوان مخزن بیماری دیستمپر برای سگ‌های شهری و گوستخواران وحشی ناحیه مطرح باشند.

واژه‌های کلیدی: خنثی‌سازی سرم، ویروس دیستمپر سگ‌ها، سگ‌های روستایی، حاشیه ساحلی دریای خزر، فک دریای خزر

(۳۰، ۲۷، ۳۰). به عنوان مثال Apple و همکاران در سال ۱۹۹۱ ابتلاء گرازها

را نیز به ویروس دیستمپر سگ‌ها گزارش کرده‌اند (۵). دیستمپر یک بیماری تب دار مولتی سیستمیک بوده و در سگ‌های غیر واکسینه (مخصوصاً سن ۳ تا ۶ ماهگی)، سگ سانان حیات وحش و پستانداران گوشتخوار بسیار کشنده بوده، باعث بروز علائم مشخص و کلاسیک بیماری (درگیری سیستم تنفسی و گوارشی) می‌شود (۲۷، ۲۶، ۱۸، ۱۲، ۱۰، ۳). تشخیص اولیه بیماری دیستمپر معمولاً بر اساس نشانه‌های بالینی و تاریخچه بیماری صورت می‌گیرد، اما با توجه به وسع بودن و غیر اختصاصی بودن علائم این بیماری معمولاً جهت تشخیص قطعی احتیاج به انجام بررسی‌های دقیق آزمایشگاهی و آزمایشاتی چون ایمونوفلورسانت، ایمونوهیستوشیمیایی، الایزا، خنثی‌سازی سرم و غیره می‌باشد که بسته به مرحله بیماری و نوع نمونه مورد بررسی حساسیت و ویژگی نتایج آزمایشات، متفاوت می‌باشد (۲۷).

در موارد تحت حاد و مزمن بیماری و همچنین جهت مطالعه گذشته نگر بیماری دیستمپر یکی از بهترین روش‌ها بررسی وجود آنتی بادی ضد ویروس دیستمپر در نمونه سرم با انجام تست خنثی‌سازی (Serum neutralization) می‌باشد (۲۷، ۶). یکی از روش‌های تشخیصی جدید در مراحل حاد بیماری استفاده از کیت‌هایی است که با ویژگی ۱۰۰-

مقدمه

عامل بیماری بسیار کشنده دیستمپر سگ‌ها، ویروس دیستمپر (CDV) از جنس موربیلی ویروس‌ها و خانواده پارامیکسوویریده بوده و از نظر ساختاری شباهت بسیار زیادی به دو گونه دیگر این خانواده یعنی ویروس سرخک و ویروس طاعون گاوی دارد. راه اصلی انتقال ویروس به حیوانات مستعد بیماری تنفس ترشحات تنفسی حیوان آلوده بصورت آئروسول می‌باشد، تماس با مدفوع و ادرار حیوان بیمار به میزان کمتری می‌تواند باعث انتقال بیماری شود (۳۴، ۲۷، ۳). غشاء لیپیدی ویروس دیستمپر موجب حساسیت بالای آن به گرما و خشکی شده، بطوریکه در دمای ۶۰°C تنها به مدت ۳۰ دقیقه زنده مانده و در دمای صفر درجه چندین هفته زنده می‌ماند. با توجه به حساسیت ویروس به گرما، این بیماری بیشتر در فصل سرد در سگ سانان مشاهده می‌شود (۲۷).

ویروس دیستمپر سگ‌ها علاوه بر سگ سانان، سایر اعضای خانواده گوشتخواران چون گرگ سانان، راسوها، راکون‌ها، خرس‌ها و پستانداران دریایی (فک‌ها).... را نیز مبتلا کرده و با توجه به جهش‌های ژنی اتفاق افتاده در این ویروس، میزبان‌های آن در حال گسترش است



مواد و روش کار

پروژه در حاشیه جنوب شرقی دریای خزر، منطقه ساحلی استان گلستان با مختصات جغرافیایی، طول (از $53^{\circ} 58' 39'' E$ تا $54^{\circ} 6' 33'' E$) و عرض (از $36^{\circ} 44' 39'' N$ تا $37^{\circ} 18' 36'' N$)، انجام شد. با در نظر گرفتن محدوده قلمرو ۵-۳ km برای سگ‌های مورد مطالعه، جهت پوشش کامل منطقه، بر اساس نقشه‌های جغرافیایی ۱/۲۵۰۰۰ تهیه شده از سازمان نقشه برداری کشور، منطقه ساحلی به ۱۲ بخش به قطر ۵ km از حاشیه دریا و مساحت تقریبی 25 Km^2 تقسیم گردید (۱، ۱۴). همچنین منطقه حفاظتی میانکاله نیز به عنوان یک بخش مورد ارزیابی قرار گرفت (تصویر ۱).

نمونه‌گیری از پائیز ۱۳۸۷ شروع و در تابستان ۱۳۸۹ به اتمام رسید. ۱۸۵ نمونه بصورت تصادفی از مناطق مورد نظر تهیه شد.

تعیین سن بر اساس گفته‌های صاحب حیوان و بررسی دندان‌های حیوان انجام می‌گرفت. جهت نمونه برداری ابتدا حیوان بصورت فیزیکی مقید شده، از نظر وجود نشانه‌های بالینی بیماری مورد معاینه قرار می‌گرفت.

در صورت مشاهده علائم بیماری، حضور ویروس در سواب اخذ شده از مخاطات چشمی - تنفسی با استفاده از کیت تشخیص سریع آنتی ژن دیستمبر (بیوتک، چین) بررسی، ضمن تهیه نمونه خون درمان بیمار آغاز می‌شد. در صورت عدم مشاهده علائم بیماری با استفاده از ترکیب کتامین (آلفاسان، هلند) - اسپرومازین (هوستراتی، بلژیک) حیوان بصورت شیمیایی مقید شده، پس از ثبت سن و جنس ۳ mL خون از طریق ورید سافن یا سفالیک اخذ و جهت جداسازی سرم به آزمایشگاه منتقل می‌شد. جداسازی سرم با انجام سانتریفیوژ خون با دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه صورت می‌گرفت و تا زمان انجام آزمایشات، نمونه‌ها در دمای $20^{\circ} C$ - نگهداری شدند. در این مطالعه ۱۷۳ نمونه سرم از سگ‌های روستایی بدون نشانه‌های بیماری و بظاهر سالم و ۱۲ نمونه سرم از سگ‌های روستایی که دارای علائم درگیری سیستم تنفسی بیماری بودند و حضور ویروس در مخاطات تنفسی و چشمی با استفاده از کیت اثبات شده بود، تهیه شد.

با توجه به اینکه تست خنثی سازی سرم (Micro neutralization) یکی از روش‌های استاندارد جهت بررسی حضور آنتی بادی ضد ویروس دیستمبر سگ‌ها می‌باشد، ۱۸۵ نمونه سرم تهیه شده، در آزمایشگاه ویروس شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران با انجام تست خنثی سازی سرم مورد بررسی قرار گرفت (۶).

ابتدا نمونه‌های سرم به مدت نیم ساعت در دمای $56^{\circ} C$ قرار گرفتند. رقت‌های سریالی ۲ Fold (۱/۲، ۱/۴، ...، ۱/۴۰۹۶) نمونه سرمی در محیط کشت سلول DMEM (Sigma, D5523, USA) به حجم ۵۰ μL در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای تهیه شد.

سپس با توجه به شباهت ساختاری ویروس سرخک با ویروس

۹۷٪ و حساسیت ۱۰۰-۹۴٪ ویروس را در ترشحات چشمی و تنفسی شناسایی می‌کنند (۱۷).

در سال‌های اخیر به علت واکسیناسیون سگ‌های اهلی و همچنین گوشتخواران وحشی در برخی کشورها، شیوع بیماری کاهش یافته است (۳، ۲۲، ۲۷، ۳۹). با این وجود وقوع بیماری در مناطقی که واکسیناسیون انجام نمی‌شود، همچنان همه‌گیر بوده و با توجه به انتقال ویروس دیستمبر از سگ‌ها به گوشتخواران حیات وحش و گسترش میزبان‌های ویروس به علت جهش‌های ژنی اتفاق افتاده، ابتلاء به دیستمبر در نقاط مختلف دنیا موجب مرگ و میرهای بسیاری در گوشتخواران وحشی (شیر، روباه، ببر، پلنگ، خرس، فرت) و پستانداران گوشتخوار دریایی از جمله فک دریای خزر شده است (۴، ۱۵، ۱۹، ۲۷، ۳۶، ۳۷، ۴۰).

در سال‌های ۱۹۹۸، ۲۰۰۰، ۲۰۰۱، ۲۰۰۸ و ۲۰۰۹ مرگ و میر صدها فک در سواحل شرقی و غربی (قزاقستان، ترکمنستان، آذربایجان) و سواحل جنوبی (استان‌های مازندران، گیلان، گلستان) دریای خزر بر اثر ابتلاء به دیستمبر سگ‌ها گزارش شد (۸، ۱۱، ۲۳، ۳۱، ۳۲، ۳۶).

جمعیت سگ‌های گله و روستایی در استان‌های شمالی کشور بسیار زیاد بوده و با توجه به عدم کنترل دقیق آنها و روش نگهداری بصورت نیمه ولگرد، احتمال اینکه سگ‌های روستایی نواحی ساحلی - شمالی کشور در مواجهه با لاشه فک‌های آلوده به دیستمبر قرار گرفته باشند، وجود دارد. با وجود حضور گسترده سگ‌های روستایی و ولگرد در نوار ساحلی - شمالی کشور، هیچ‌گونه اطلاعاتی راجع به میزان شیوع بیماری دیستمبر در سگ‌سانان ناحیه وجود ندارد. از سوی دیگر با توجه به رژیم غذایی مشابه سگ‌سانان و همچنین در موارد نادر جفت‌گیری بین گونه‌ای، احتمال ارتباط آنها با سایر سگ‌سانان وحشی منطقه از جمله شغال‌ها، روباه‌ها و گربه‌سانان جنگل‌های شمال ایران (پلنگ ایرانی، گربه جنگلی، گربه پالاس) و انتقال بیماری به این گونه‌ها، بالا می‌باشد (۱۴، ۲۰، ۴۲).

با مشخص نمودن گونه‌ای که نقش مخزن جهت حفظ این ویروس در طبیعت را دارد و کنترل بیماری در این جمعیت، می‌توان بیماری را در سگ‌سانان اهلی و وحشی و حتی جمعیت‌های گوشتخواران وحشی ساکن در جنگل‌های شمالی ایران کنترل کرد (۲۴، ۳۸، ۴۱).

بیشترین گزارشات مشاهده فک دریای خزر در سواحل شمال ایران مربوط به سواحل میانکاله و گمیشان در استان گلستان که در جنوب شرق دریای خزر قرار گرفته‌اند، بوده است (۳۵). با در نظر گرفتن این نکته، با هدف بررسی احتمال انتقال ویروس از فک دریای خزر به سگ‌سانان ناحیه و بررسی احتمال مخزن بودن سگ‌های روستایی (سگ‌های گله و نیمه ولگرد) ناحیه جهت انتقال بیماری دیستمبر به سایر سگ‌سانان (شهری و وحشی)، طی طرح انجام شده میزان فراوانی نسبی تیتراژ مثبت آنتی بادی ضد دیستمبر در سگ‌های غیر واکسینه روستایی (گله و نیمه ولگرد) ساکن در روستاهای حاشیه ساحلی استان گلستان و منطقه حفاظتی میانکاله مورد مطالعه قرار گرفت.



عدم مشاهده آنتی بادی در ۳ نمونه سرم از ۱۲ سرم تهیه شده از سگ‌هایی که نشانه‌های بیماری را نشان داده و آنتی ژن ویروس دیستمبر توسط کیت با حساسیت ۱۰۰-۹۴٪ و ویژگی ۱۰۰-۹۷٪ در مخاطات تنفسی و چشمی شناسایی شده بود، می‌تواند ناشی از علل مختلفی چون عدم تولید آنتی بادی به علت کاهش سیستم ایمنی توسط ویروس دیستمبر، عدم زمان کافی جهت آماده شدن سیستم دفاعی برای تولید آنتی بادی بر علیه ویروس دیستمبر، عدم قدرت شناسایی آنتی بادی ساخته شده در بدن بیماران بر علیه سویه وحشی ویروس دیستمبر توسط ویروس سرخک، خطا در تهیه نمونه و یا اشتباه در انجام آزمایش، باشد (۲۷).

در بسیاری از مطالعات صورت گرفته شیوع آنتی بادی ضد دیستمبر رابطه‌ای با سن حیوان نداشته و در مطالعه حاضر نیز چنین رابطه‌ای مشاهده نشد (۲۵، ۳۳).

در مطالعات انجام شده توسط Mccaw و همکاران در سال ۱۹۹۸ و Hedley و همکاران در سال ۲۰۰۰ اختلافی بین میزان شیوع آنتی بادی بین دو جنس وجود نداشت (۲۹، ۳۳).

سرما موجب بقاء و حضور طولانی مدت تر ویروس در محیط می‌شود و در نتیجه امکان انتقال آن به جمعیت حیوانات مستعد در زمستان بیشتر می‌شود. نتایج بدست آمده در این تحقیق نیز همچون نتایج حاصل از مطالعه Hedley و همکاران در سال ۲۰۰۰ مؤید این حقیقت بوده و بیشترین شیوع آنتی بادی در فصل سرد مشاهده شد (۲۹).

در مطالعه مشابه انجام شده توسط Almeida و همکاران در سال ۲۰۱۰ در برزیل شیوع آنتی بادی ضد دیستمبر در سگ‌های غیر واکسینه ۶۶٪ و در سگ‌سانان وحشی صفر درصد بوده است (۲).

در مطالعه مشابه Abi و همکاران در سال ۲۰۰۷ بر روی سگ‌های روستایی غیر واکسینه و روباه‌ها در هند، با توجه به اینکه شیوع آنتی بادی ضد دیستمبر در سگ‌های غیر واکسینه ۹۰/۷٪ و در روباه‌ها ۳۴/۲٪ بود، سگ‌های غیر واکسینه به عنوان منبع بیماری معرفی شدند (۱).

بعد از تلفات بالای شیرهای پارک سرنگتی در تانزانیا به علت آلودگی به ویروس دیستمبر سگ‌ها، Cleaveland و همکاران در سال ۲۰۰۰ جهت مشخص کردن گونه‌ای که نقش مخزن بیماری را در ناحیه داشته، به مطالعه میزان شیوع آنتی بادی ضد دیستمبر در سگ‌های روستایی اطراف پارک سرنگتی پرداختند و با توجه به شیوع بالای آنتی بادی ضد دیستمبر در سگ‌های روستایی (۶۰٪)، سگ‌های روستایی ناحیه را عامل انتقال دیستمبر به شیرهای پارک سرنگتی عنوان کردند. نتایج این تحقیق نیز می‌تواند شاهی بر احتمال مخزن بودن سگ‌های گله و نیمه و لگرد روستایی برای سایر سگ‌سانان ناحیه باشد (۱۶).

نتیجه حاصل از مطالعه حاضر در مورد فراوانی نسبی سگ‌های با تیتیر مثبت آنتی بادی ضد ویروس دیستمبر، نسبت به نتایج حاصل از مطالعه انجام شده توسط Avizeh و همکاران در سال ۲۰۰۷ بر روی سگ‌های روستایی غیر واکسینه اطراف اهواز (۱۷/۵۲٪)، Gencay و همکاران در سال

دیستمبر سگ‌ها، ۵۰ μL ویروس سرخک TCID₅₀/۵۰ μL (Lot Not: 00289002) ۱۰۰۰، سویه آلبک به عنوان آنتی ژن به پلیت‌ها اضافه شد. بعد از یک ساعت گرمخانه‌گذاری نمونه‌ها در دمای ۳۷°C، ۵۰ μL سوسپانسیون Vero Cell به هر کدام از خانه‌های پلیت اضافه شد. پلیت‌ها به مدت ۵-۴ روز در انکوباتور (۳۷°C، ۵٪ CO₂) انکوبه شدند. اثرات سایتوپاتیک بر سلول‌ها با استفاده از رنگ آمیزی گیمسا مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش رقت ۱/۳۲ و بالاتر به عنوان تیتیر مثبت در نظر گرفته شد (۱۳، ۱۵).

داده‌های این تحقیق با استفاده از نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۰) و با استفاده از روش‌های آمار توصیفی، برآورد نقطه‌ای و فاصله‌ای نسبت آلودگی و آزمون مربع کای (جهت مقایسه نسبت آلودگی در فصول و سنین مختلف) با سطح اطمینان ۹۵٪ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و $p < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

از بین ۱۷۳ نمونه تهیه شده از سگ‌های بدون علائم بیماری، ۹۴ نمونه و از ۱۲ نمونه تهیه شده از سگ‌های دارای علائم تنفسی بیماری دیستمبر، ۹ نمونه از نظر حضور آنتی بادی در نمونه سرم مثبت بودند. با در نظر گرفتن فاصله اطمینان (۶۱-۴۷: ۹۵٪ CI) سطح آلودگی در نمونه‌های سرمی حیوانات تحت مطالعه ۵۵/۶٪ (۱۰۳/۱۸۵) برآورد گردید.

مقایسه نسبت آلودگی در سنین مختلف و دو جنس نشان داد رابطه‌ای بین جنسیت و سن حیوانات با میزان تیتیر آنتی بادی دیستمبر وجود ندارد، نتایج در جداول ۱ و ۲ خلاصه شده است.

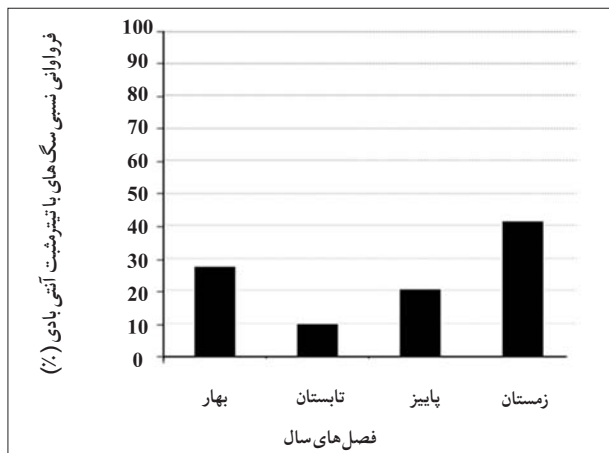
آزمون مربع کای اختلاف معنی‌داری را بین فصول مختلف سال از نظر درصد سگ‌های با تیتیر مثبت آنتی بادی نشان داد و در زمستان درصد سگ‌های با تیتیر مثبت از سایر فصل‌ها بالاتر بود ($p < 0/05$) (نمودار ۱).

بحث

بیماری دیستمبر یکی از شایع‌ترین و کشنده‌ترین بیماری‌های سگ‌سانان می‌باشد. در این مطالعه آنتی بادی ضد ویروس دیستمبر در ۱۰۳ سرم (۵۵/۶٪) از ۱۸۵ سرم تهیه شده از سگ‌های روستایی مشاهده شد. درصد بالای سگ‌های با تیتیر مثبت در میان مواردی که در معاینات بالینی سالم بودند (۹۴/۱۷۳) و همچنین مشاهده سگ‌هایی با علائم بیماری دیستمبر که حضور آنتی ژن در کیت تشخیصی به اثبات رسیده و در نمونه‌های سرم آنها آنتی بادی ضد ویروس دیستمبر (۹/۱۲) مشاهده شد، بیانگر این است که سگ‌های ناحیه معمولاً در معرض ابتلاء به ویروس دیستمبر قرار دارند.

با توجه به عدم واکسیناسیون در ناحیه، فراوانی نسبی ۵۵/۶٪ تیتیر مثبت آنتی بادی ضد ویروس دیستمبر در نمونه‌های تهیه شده می‌تواند بیانگر تماس سگ‌های ناحیه با سویه وحشی ویروس باشد.





نمودار ۱. فراوانی نسبی سگ‌های با تیترا مثبت آنتی بادی ضد ویروس دیستمپر در منطقه روستایی جنوب شرق دریای خزر بر حسب فصل سال (۱۳۸۹-۱۳۸۷).

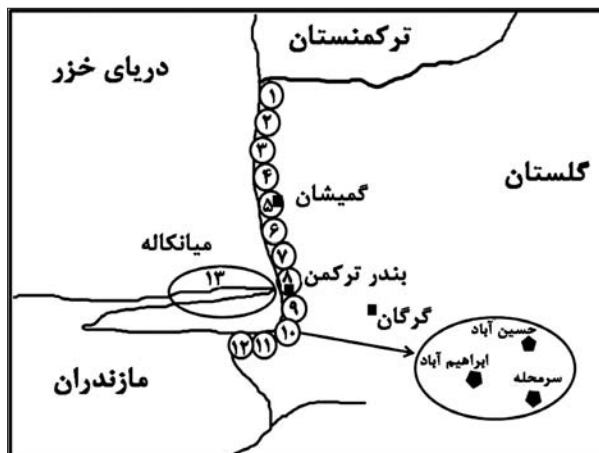
دریای خزر در بقاء ویروس دیستمپر سگ‌ها در مناطق ساحلی ایران انجام نشده است.

با توجه به شرایط ساحلی استان گلستان، محل استقرار فک‌ها در سواحل این استان و عدم استقرار طولانی مدت فک‌ها در سواحل ایران احتمال اینکه سگ‌های روستایی و ولگرد در حاشیه ساحلی ایران منشأ انتقال ویروس دیستمپر به فک دریای خزر باشند غیر منطقی به نظر می‌رسد (۲۸، ۳۵). از سوی دیگر نتایج حاصله از برخی مطالعات انجام شده در کشورهای حاشیه شمال دریای خزر نیز حاکی از احتمال انتقال ویروس دیستمپر سگ‌ها، از سگ‌سانان وحشی از جمله گرگ‌ها به فک‌ها در سواحل یخی و شمالی دریای خزر (روسیه، آذربایجان) می‌باشد (۱۱، ۲۳). از طرفی با توجه به مشاهده لاشه فک‌های تلف شده بر اثر ابتلا به ویروس دیستمپر سگ‌ها در سواحل شمالی کشور و احتمال تماس سگ‌سانان ناحیه بالاشه‌ها، امکان انتقال ویروس دیستمپر به این سگ‌سانان و سایر گوشتخوران منطقه وجود دارد که نتایج حاصل از مطالعه اخیر نیز این نظریه را بیشتر تأیید می‌نماید. البته بررسی این موضوع خود نیازمند به انجام مطالعات مولکولی و ژنتیکی جهت بررسی قرابت ژنتیکی ویروس دیستمپر جدا شده از سگ‌سانان ناحیه شمالی کشور با ویروس جدا شده از فک دریای خزر می‌باشد.

به هر حال با توجه به درصد بالای سگ‌های با تیترا مثبت ناحیه، انجام واکسیناسیون در سگ‌های گله و ولگرد می‌تواند نقش مهمی در کنترل بیماری در جمعیت سگ‌سانان اهلی و وحشی و سایر گونه‌های گوشتخوار این ناحیه که بعضاً در معرض خطر انقراض نسل، نیز هستند داشته باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند که از همکاری بی دریغ آقایان دکتر عاطفی نژاد و دکتر سنجولی رؤسای اداره کل دامپزشکی استان گلستان، دکتر ایزدی رئیس شبکه دامپزشکی بندر ترکمن، جناب



تصویر ۱. محدوده مورد مطالعه در حاشیه ساحلی استان گلستان، به ۱۲ بخش به قطر ۵km از حاشیه دریا و مساحت تقریبی ۲۵km^۲ تقسیم گردید.

جدول ۱. فراوانی نسبی سگ‌های با تیترا مثبت آنتی بادی در مناطق روستایی جنوب شرق دریای خزر بر حسب سن در سال‌های ۱۳۸۷-۱۳۸۹.

گروه سنی (سال)	فراوانی نسبی	تعداد نمونه	تعداد موارد مثبت (%)
< ۱ سال		۱۲	۵۰/۶
۱-۲		۱۸	۵۰/۹
۲-۳		۲۵	۵۶/۱۴
۳-۴		۲۰	۶۰/۱۲
۴-۵		۳۰	۶۰/۱۸
۵-۶		۳۲	۵۹/۳۰
۶-۷		۱۶	۴۳/۸۰
۷-۸		۱۴	۵۰/۷
۸-۹		۱۰	۶۰/۶
۹-۱۰		۸	۶۲/۵۰
جمع		۱۸۵	۵۵/۶۰

جدول ۲. فراوانی نسبی سگ‌های با تیترا مثبت آنتی بادی در مناطق روستایی جنوب شرق دریای خزر بر حسب جنس در سال‌های ۱۳۸۷-۱۳۸۹.

جنسیت	فراوانی نسبی	تعداد نمونه	تعداد موارد مثبت (%)
نر		۱۵۰	۵۵/۳۰
ماده		۳۵	۵۷/۱۰
جمع		۱۸۵	۵۵/۶۰

۲۰۰۴ در ترکیه (۹/۳٪) و همکاران در سال ۲۰۰۶ در برزیل (۲۷/۳٪) بالاتر بود (۹، ۲۱، ۲۵).

تفاوت نتایج بدست آمده در این مطالعه با سایر مطالعات ممکن است ناشی از تفاوت اقلیمی، انجام واکسیناسیون بر علیه بیماری دیستمپر و قرنطینه در مناطق دیگر و بکار بردن روش آزمایشگاهی متفاوت جهت شناسایی آنتی بادی دیستمپر در سایر مطالعات مشابه و با وقوع پدیده ای منحصر بفرد در این محدوده جغرافیایی (نظیر مرگ و میر دسته جمعی فک‌ها بر اثر دیستمپر) باشد.

بعد از مرگ و میرهای رخ داده در فک دریای خزر بر اثر ابتلا به ویروس دیستمپر، تا کنون تحقیقات جامعی در ارتباط با نقش اپیدمیولوژی فک



References

1. Abi, T.V., Aniruddha, V.B., Matthew, E.G. (2007) Spill-over of canine distemper virus from free-ranging dogs to Indian foxes in central India. *J Wild Con.* 2: 14-18.
2. Almeida, C.N.H., Araujo, A.S., Campos, F.S., Lobato, Z.I.P., Gennari, S.M., Marvulo, M.F.V., et al. (2010) Wild canids, domestic dogs and their pathogens in Southeast Brazil: Disease threats for canid conservation. *Biodivers Conserv.* 19: 13-24.
3. Appel, M.J.G. (1987) *Virus Infection of Carnivores.* Elsevier Science Publisher, New York. USA.
4. Apple, M.J.G., Rebecca, A.Y., George, L.F., Jon, J.B., Silvio, S., Lucy, H.S., et al. (1994) Canine distemper epizootic in lions, tigers and leopards in North America. *J Vet Diagn Invest.* 6: 277-288.
5. Appel, M.J.G., Reggiardo, C., Summers, B.A., Pearce-Kelling, S., Marc, J., Noon, T.H., et al. (1991) Canine distemper virus infection and encephalitis in javelinas (collared peccaries). *Arch Virol.* 119: 147-152.
6. Apple, M.J.G., Robson, D.S. (1973) A micro-neutralization test for canine distemper virus. *Am Vet Res.* 34: 1459-1463.
7. Appel, M.J.G., Summers, B.A. (1995) Pathogenicity of morbilliviruses for terrestrial carnivores. *Vet Microbiol.* 44: 187-191.
8. Asadi, H. (2009) Survey on mass dies of Caspian seals. *J Environ Sci.* 9: 13-23.
9. Avizeh, R., Shapouri, S.M.R., Akhlaghi, N. (2007) Antibody titer against canine distemper virus in unvaccinated rural dogs from Ahvaz, Iran. *J Biol Sci.* 10: 70-72.
10. Barret, T. (1999) Morbillivirus infections, with special emphasis on morbilliviruses of carnivores. *Vet Microbiol.* 69: 3-13.
11. Barret, T., Pramoda, S., Paul, D.J. (2000) Seal distemper outbreak 2002. *Vet Microbiol.* 30: 162-164.
12. Barrett, T., Visser, I.K.G., Mamaev, L., Goatley, L., Bressemer, M.F., Osterhaus, A.D.M.E. (1993) Dolphin and porpoise morbilliviruses are genetically distinct from phocine distemper virus. *J Virol.* 193: 1010-1012.
13. Benjamin, C.D., Byron, E.E.M., Serge, L., Joel, M., Albert, D.E.M.O., Claude, P.M. (2002) Prevalence of antibodies against canine distemper virus among red fox in Luxembourg. *J Wild Dis.* 38: 856-859.
14. Boitani, L., Ciucci, P. (1995) Comparative social ecology of feral dogs and wolves. *J Ethol Ecol Evol.* 7: 49-72.
15. Cattet, M.R.L., Duignan, C.A., House, D.J., Aubin, T. (2004) Antibodies to canine distemper viruses and phocine distemper viruses in polar bears from the Canadian arctic. *J Wild Dis.* 40: 338-342.
16. Cleaveland, S., Appel, A.M.G.J., Chalmer, W.S.K., Chillingworth, C., Kaare, M., Dye, C. (2000) Serological and serodigraphic evidence for domestic dogs as a source of canine distemper virus infection for Serengeti wildlife. *Vet Microbiol.* 72: 217-227.
17. Cuong, T.B., Berezaie, C. (2011) Sensitivity and Specificity of Rapid - Distemper- Adenovirus AG Kit. Modern veterinary therapeutic company. Miami. USA.
18. Curran, M.D., O'Loan, D., Rima, B.K., Kennedy, S. (1990) Nucleotide sequence analysis of phocine distemper virus reveals its distinctness from canine distemper virus. *Vet Rec.* 127: 430-431.
19. Davidson, W.R., Nettles, V.F., Hayes, L.E., Howerth, E.W., Couvillion, C.E. (1992) Diseases diagnosed in gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*) from the southeastern United States. *J Wild Dis.* 28: 28-33.
20. Deem, S.L., Spelman, L.H., Yates R.A., Montali, R.J. (2000) Canine distemper in terrestrial carnivores: A review. *J Zoo Wild Med.* 31: 441-451.



21. Dezengrini, R., Weiblen, R., Flores, E., Furtado, D. (2006) Seroprevalence of parvovirus, adenovirus, coronavirus and canine distemper virus infections in dogs of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. *J Cienc Rur.* 37: 44-51.
22. Ettinger, S.J., Feldman, E.C. (2010) Text book of Veterinary Internal Medicine (7th ed.). Saunders Elsevier, ST. Louis, Missouri, USA.
23. Forlish, M.A., Kennedy, S., Wilson, S., Eybatoy, T., Barrett, T. (1998) Canine distemper virus in a Caspian sea. *J Vet Rec.* 143: 662-664.
24. Funk, S.M., Fiorello, C.V., Cleaveland, S., Gompper, M.E. (2001) The role of disease in carnivore ecology and conservation. *J Carniv Conserv.* 4: 441-466.
25. Gencay, A., Oncel, T., Karaogul, T., Sancak, A.A., Demir, A.B., Ozkul, A. (2004) Antibody prevalence to canine distemper virus (CDV) in stray dogs in Turkey. *J Rev Med Vet.* 155: 8-10.
26. Gorham, J.R. (1966) The epizootiology of distemper. *Am Vet Med Assoc.* 149: 410-422.
27. Green, C.E. (2006) Infectious Disease of the Dog and Cat (3rd ed.). Saunders Elsevier, ST. Louis, Missouri, USA.
28. Harkonen, T., Jussi, M., Baimukanov, M., Bignert, A., Dmitrieva, L., Kasimbekov, Y., et al. (2008) Pup production and breeding distribution of the Caspian seal (*Phoca caspica*) in relation to human impacts. *Ambio.* 37: 356-361.
29. Heddley, C., Kaim, U., Muller, G., Seeliger, F., Van, M.P., Baumgartner, W. (2000) Canine distemper: epidemiological findings of 250 cases. *Brazil J Vet Res Anim Sci.* 37: 23-28.
30. Herden, T.C., Osrerhaus, A.D.M.E. (1997) Canine distemper virus--a morbillivirus in search of new hosts? *Trends Microbiol.* 5: 120-124.
31. Kennedy, S., Kuiken, T., Jepson, P.D., Deaville, R., Forsyth, M., Barrett, T., et al. (2000) Mass die of Caspian seals caused by canine distemper virus. *J Emerg Infect Dis.* 6: 637-639.
32. Kuinen, T., Kennedy, S., Tom, B., Vandebuld, M. W.G., Bogsteed, F.H., Brew, S.D., et al. (2006) The 2000 canine distemper epidemic in caspian seal (*Phoca caspica*): pathology and analysis of contributory factors. *Vet Pathol.* 43: 321-338.
33. Mccaw, D.L., Thopson, M., Tate, D., Bonder, A., Chen, T.J. (1998) Serum distemper virus and parvovirus antibody titer among dogs brought to veterinary hospital for vaccination. *Am Vet Med Assoc.* 213: 72.
34. Mays, A., Aiello, S.E. (2006) Merk Veterinary Manual (10th ed.). White House Station. Philadelphia, USA.
35. Mirzajani, A., Kiyabi, B., Adeli, Y. (2011) Caspian Sea. Department of environmental protection publication. Gilan, Iran.
36. Ohashik, K., Miyazkin, N., Tanabe, S., Nakata, H., Miura, R., Fujta, K., et al. (2001) Seroepidemiological survey of distemper virus infection in the Caspian Sea and in Lake Baikal. *J Vet Microbiol.* 82: 203-210.
37. Roellek, M.E., Munson, L., Packer, C., Kock, R., Cleaveland, S., Carpenter, M., et al. (1996) A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). *Nature.* 79: 441-445.
38. Scott, E.H., Robert, M.T., Gary, E.L. (1994) The Handbook: Prevention and control of wildlife damage. University of Nebraska. London, USA.
39. Welter, J., Taylor, J., James, T., Enzo, P., Charles, B. (2000) Vaccination against canine distemper virus infection in infant ferrets with and without maternal antibody protection, using recombinant attenuated poxvirus vaccines. *J Virol.* 74: 358-367.
40. Williams, E.S., Thome, E.T., Appel, M.J.G., Belitsky, D.W. (1988) Canine distemper in black-foot ferrets from wyoming. *J Wild Dis.* 24: 385-388.
41. Woodroffe, R. (1999) Managing disease threats to wild mammals. *J Anim Conserv.* 2: 185-193.
42. Ziaee, H. (2008) Field Handbook of Iran's Mammals. Association with Wildlife Publisher (2nd ed.). Introduction Wildlife Center Institute Publication. Tehran, Iran.



Antibody monitoring to canine distemper virus in unvaccinated rural dogs in the southern coastal region of Caspian sea

Namroudi, S.¹, Rostami, A.^{1*}, Barin, A.¹, Majidzadeh Ardebili, K.²

¹Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran

²Aja University of Medical Sciences, Medical Faculty, Tehran-Iran

(Received 4 February 2013 , Accepted 22 April 2013)

Abstract:

BACKGROUND: Mass mortality of Caspian seal has occurred in recent years and canine distemper virus (CDV) has been identified as the main pathogenic agent in these events. Despite the repetition of this event and the presence of a large number of dead seals in the coastal region of the Caspian Sea, very little is known about the epidemiological role of these animals in canine distemper virus survival in this area. **OBJECTIVES:** In this study the frequency of antibody against CDV in unvaccinated rural dogs in the southeast coastal region of the Caspian Sea (Iran) was evaluated by means of serum neutralization test. **METHODS:** Serum samples (185) were randomly collected from rural dogs from 2008 to 2010. **RESULTS:** Totally the frequency of positive antibody reaction in animals against CDV was found to be 55.6% (103/185) in 1/32 dilution (CI%95: 47-61). In this study no significant difference in susceptibility was observed between males and females and among different age groups. Moreover, most of the positive cases were observed during the winter. **CONCLUSIONS:** These results indicate that this virus is present in the ecosystem. Furthermore, there is evidence of previous natural exposure to CDV. This high frequency of antibody in serum samples might be because of previous contact with CDV contaminated corpse of Caspian seal. Dogs' population in rural areas is dense enough to maintain CDV in environment and rural dogs can be a reservoir of infection for urban dogs and wild carnivores.

Key words: serum neutralization, canine distemper virus, rural dogs, coastal regions of the Caspian sea, caspian seal

Figure Legends and Table Captions

Figure 1. The study field was divided into 12 parts, each with an area of 25 km² and the diameter of 5 km from the sea side.

Table 1. Relative frequency of the rural dogs with positive antibody titer in the coastal region of the Caspian Sea based on age during the period 2008-2010.

Table 2. Relative frequency of the rural dogs with positive antibody titer in the coastal region of the Caspian Sea based on gender during the period 2008-2010.

Graph 1. Relative frequency of the rural dogs with positive antibody titer in the coastal region of the Caspian Sea based on season during the period 2008-2010.



*Corresponding author's email: arostami@ut.ac.ir, Tel: 021-66920035, Fax: 021-66923747