

جستجوی گاو میش‌های حامل ویروس تب برفکی کشتار شده در کشتارگاه اهواز

آریا رسولی^۱، مسعود رضا صیفی‌آبادشاپوری^۲، محمدرحیم حاجی‌حاجیکلائی^۳ و امیر کمیلیان^۴

تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۲۲

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱/۱۵

خلاصه

بیماری تب برفکی یکی از مهمترین بیماری‌های واگیردار حیوانات زوج سم است که می‌تواند خسارات اقتصادی شدیدی به همراه داشته باشد. یکی از جنبه‌های مهم بیماری تب برفکی عفونت پایدار است که ممکن است پس از بهبودی از شکل بالینی بیماری و یا به دنبال مواجهه نشخوارکنندگان واکسینه با ویروس زنده رخ دهد. به منظور بررسی عفونت پایدار با ویروس تب برفکی در گاو میش، مطالعه حاضر بر روی ۱۰۰ رأس گاو میش ماده بالغ کشتار شده در کشتارگاه شهرستان اهواز واقع در جنوب غرب ایران صورت پذیرفت. نمونه‌های حاصل از ترشحات حلقی و بافت مخاطی نرم کام پشتی گاو میش‌های ماده به روش RT-PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که از ۱۰۰ نمونه جمع‌آوری شده، ۲ نمونه (۲٪) از نظر وجود ژنوم تب برفکی و در نتیجه آلودگی به ویروس تب برفکی مثبت هستند. این مطالعه برای اولین بار در ایران وجود عفونت پایدار با ویروس تب برفکی در گاو میش‌ها را به اثبات رساند. از آنجا که گاو میش‌ها در تماس نزدیک با سایر دام‌های حساس نظیر گاو و گوسفند قرار دارند این امر می‌تواند خطر عمده‌ای در گسترش بیماری در منطقه محسوب شود.

کلمات کلیدی: تب برفکی، حامل، گاو میش، اهواز، ایران

مقدمه

مهم بیماری تب برفکی، عفونت پایدار می‌باشد که ممکن است پس از بهبودی از شکل بالینی بیماری و یا به دنبال مواجهه با ویروس زنده در نشخوارکنندگان واکسینه ایجاد شود (۱۴ و ۲۵). این حیوانات در اپیدمیولوژی تب برفکی اهمیت زیادی دارند، زیرا ممکن است ویروس تب برفکی را انتقال داده همه‌گیری جدیدی را موجب گردند (۲۳ و ۲۶). حامل به حیوانی اطلاق می‌شود که بتوان ۲۸ روز پس از عفونت، ویروس زنده را از آن جدا نمود (۱۱). طول مدت وضعیت حاملی به گونه حیوان و خصوصیات فردی بستگی دارد. گاو ممکن است برای مدتی بیش از ۳ سال، گوسفند برای ۹ ماه (۲۶)، بز و نشخوارکنندگان وحشی برای مدتی کوتاهتر حامل

بیماری تب برفکی از دیرباز کانون توجه ویروس‌شناسان، اپیدمیولوژیست‌ها و دامپزشکان بوده است. این بیماری از نظر بهداشت جمعیت‌های دامی، وارد آمدن خسارات سنگین اقتصادی در زمینه تولیدات دامی و همچنین هزینه هنگفت مبارزه و کنترل آن بسیار مهم می‌باشد. ویروس بیماری تب برفکی که عامل بیماری شدید و زیکولی در دام‌ها می‌باشد عضوی از جنس آفتوویروس و خانواده پیکورناویریده است (۸). در ایران برای اولین بار تیپ O ویروس در سال ۱۳۳۴، تیپ A در سال ۱۳۳۹ و تیپ Asia1 در سال ۱۳۴۲ جدا گردید و بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهند که تیپ‌های فوق از نقاط مختلف کشور جدا شده‌اند (۱). یکی از جنبه‌های

E-mail: rasooliaria2000@yahoo.com (نویسنده مسئول)

^۱ دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز

^۲ استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز

^۳ استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز

^۴ دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز

موارد بالینی بیماری در منطقه طی ۲ سال قبل از نمونه-گیری، احتمال وجود حاملین در دام های جوان به شدت کاهش یافته لذا گاویش های ماده ای که حداقل یک زوج دندان ثنایای دائمی داشتند انتخاب شده و پس از کشتار و قبل از نمونه برداری، جهت تعیین وضعیت ابتلاء به تب برفکی، محوطه دهانی بازرسی و در صورتی که فاقد جراحات تازه یا آثار بهبود یافته مربوط به تب برفکی بودند، نمونه برداری صورت پذیرفت. برای نمونه برداری، پس از ذبح دام دیواره مری با دو عدد پنس باز شده و با وارد نمودن قاشقک پلاستیکی مقداری از ترشحات حلق همراه با بافت مخاطی نرم کام پشتی برداشته و به یک میکروتیوب استریل منتقل گردید. کلیه نمونه ها در مجاورت یخ به آزمایشگاه ویروس شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران منتقل و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

انجام آزمایش RT-PCR

آزمایش RT-PCR با استفاده از پرایمرهای طراحی شده توسط Zhang و Kitching (۲۰۰۱) (۳۱) انجام پذیرفت (دستگاه PCR مدل Corbett Research، ساخت استرالیا). بدین منظور در ابتدا با استفاده از محلول تجاری استخراج RNA (ساخت پژوهشگاه ژنتیک ایران) و طبق دستورالعمل سازنده، RNA ژنومی از ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه (ترشحات حلق همراه با بافت مخاطی نرم کام پشتی) استخراج گردید. رسوب RNA به دست آمده از هر نمونه در ۱۱/۵ میکرولیتر آب تیمار شده با دی اتیل-پیروکربنات (Sigma، ایالات متحده آمریکا) محلول گشت و برای ساخت cDNA طی فرایند رونوشت برداری معکوس، یک میکرولیتر (۵۰ پیکومول) پرایمر Reverse اختصاصی ناحیه غیرکدکننده ۵' ژنوم (توالی پرایمر Reverse : CCAGTCCCCTTCTCAGATC) به آن اضافه شد. مخلوط RNA و پرایمر به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد حرارت داده شد، سپس به طور سریع روی یخ قرار گرفت. پس از گذشت ۵ دقیقه ۴

ویروس باشند و برای شترسانان آمریکای جنوبی وضعیت حامل وجود ندارد (۲۰). اکثر جمعیت های گاویش آفریقایی در آفریقای جنوبی آلودگی بالایی با تیپ های SAT ویروس تب برفکی دارند (۱۳). در پارک ملی کروگر در آفریقای جنوبی میزان عفونت پایدار در گاویش ها ۶۰ درصد می باشد (۱۹). برخی از گاویش ها ممکن است عفونت را برای دوره هایی حداقل به مدت ۵ سال حفظ نمایند (۱۰) و برخی ممکن است با بیش از یک تیپ از ویروس تب برفکی در ناحیه حلق به عفونت پایدار مبتلا باشند (۱۹). حاملین، عفونت را به میزان بسیار ناچیز و فقط به دنبال تماس طولانی و نزدیک به هم گله ای ها و گونه های حساس دیگر منتقل می کنند (۵) و موارد بسیار اندکی از آلودگی به ویروس تب برفکی در گاویش با علائم بالینی همراه بوده است. به نظر می رسد گاویش ها در مقایسه با سایر زوج سمان نسبت به ویروس تب برفکی از مقاومت بیشتری برخوردار باشند (۲۹). در اپیدمی های به وقوع پیوسته در استان خوزستان نیز مواردی از ابتلاء بالینی گاویش ها تشخیص داده شده است.

با توجه به عدم انجام واکسیناسیون منظم علیه تب برفکی در جمعیت های گاویش در استان خوزستان و تماس مداوم این حیوان با سایر جمعیت های دامی نشخوارکننده، احتمالاً گاویش می تواند در انتشار ویروس در میان جمعیت های دامی نقش داشته باشد. از آنجا که مطالعه ای در این رابطه در ایران صورت نگرفته است لذا مطالعه حاضر برای اولین بار فراوانی عفونت پایدار با ویروس تب برفکی در گاویش های کشتار شده در کشتارگاه اهواز را مورد بررسی قرار داد.

مواد و روش کار

جمع آوری نمونه ها

این مطالعه بر روی ۱۰۰ رأس گاویش ماده کشتار شده طی ماه های اردیبهشت، خرداد و تیر ۱۳۸۴ در کشتارگاه اهواز صورت پذیرفت. به دلیل مشاهده نشدن

توالی به دست آمده با استفاده از برنامه BLAST نسخه 2.2.26 (۳۲) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

در این مطالعه که برای نخستین بار در ایران صورت پذیرفت، ۱۰۰ نمونه از ترشحات حلقی و بافت مخاطی نرم کام پشتی گاو میش‌های ماده به روش RT-PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که ۲ نمونه (۲٪) از نظر وجود ژنوم ویروس تب برفکی و در نتیجه آلودگی به ویروس تب برفکی مثبت و ۹۸ نمونه (۹۸٪) منفی بودند (تصویر ۱). هر دو نمونه مثبت مربوط به گاو میش‌هایی بود که چهار زوج دندان ثنایای دائم داشتند. جهت اطمینان از ماهیت قطعات DNA تکثیر یافته در RT-PCR، یکی از محصولات پس از خالص‌سازی تعیین توالی شد. پس از بررسی توالی به دست آمده (Ahwaz/84) با برنامه Blast تعلق این قطعه به ژنوم ویروس تب برفکی مورد تأیید قرار گرفت.

بر اساس این بررسی از میان توالی‌های موجود ویروس تب برفکی در بانک ژن، توالی ناحیه 5' جدایه A/IRN/2005 بیشترین شباهت (۹۹٪) را با توالی به دست آمده در این مطالعه نشان داد. پس از جدایه A/IRN/2005، جدایه‌های پاکستانی A/Pak1/2006، A/Pak3/2006 و A/Pak5/2006 با شباهت ۹۸٪ بیشترین میزان قرابت را دارا بودند. همترازی این توالی‌ها که با استفاده از برنامه BioEdit نسخه 5.0.9 (۱۶) انجام گردید در تصویر ۲ نشان داده شده است.

میکرولیتر بافر ۵X واکنش رونوشت برداری معکوس (Fermentas، لیتوانی)، ۲ میکرولیتر مخلوط نوکلئوتیدی ۱۰ میلی‌مولار (سیناژن، ایران) و ۰/۵ میکرولیتر (۲۰ واحد) مهارکننده ریبونوکلئاز (Fermentas، لیتوانی) اضافه و میکروتیوب حاوی این مواد به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. در مرحله بعد با افزودن ۱ میکرولیتر (۲۰۰ واحد) آنزیم رونوشت برداری معکوس (Fermentas، لیتوانی)، ساخت cDNA در طی یک ساعت در ۴۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد و با ۱۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری در ۷۰ درجه سانتی‌گراد پایان یافت. تکثیر cDNA ساخته شده با PCR نیز به شرح زیر انجام شد: ۵ میکرولیتر cDNA با ۵ میکرولیتر بافر ۱۰X PCR (سیناژن، ایران)، ۱ میکرولیتر مخلوط نوکلئوتیدی ۱۰ میلی‌مولار، ۱/۵ میکرولیتر کلرید منیزیم ۵۰ میلی‌مولار، ۱ میکرولیتر (۵۰ پیکومول) از پرایمرهای اختصاصی ناحیه غیرکدکننده 5' ژنوم (توالی پرایمر Forward: CCTGGTCTTTCCAGGTCT و پرایمر Reverse همانند فوق) و ۰/۵ میکرولیتر (۲/۵ واحد) آنزیم DNA پلیمرز Taq (سیناژن، ایران) در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر مخلوط و تکثیر cDNA طی ۳۵ چرخه دمایی ۹۴ درجه ۱ دقیقه، ۵۵ درجه ۱ دقیقه و ۷۲ درجه ۱ دقیقه انجام شد. مراحل دمایی پیش و پس از تکثیر به ترتیب شامل ۹۴ درجه ۵ دقیقه و ۷۲ درجه ۵ دقیقه بود. در پایان محلول RT-PCR با طول قابل انتظار ۳۲۸ زوج باز در ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید با استفاده از دستگاه ترانس ایلومیناتور مورد مشاهده قرار گرفت.

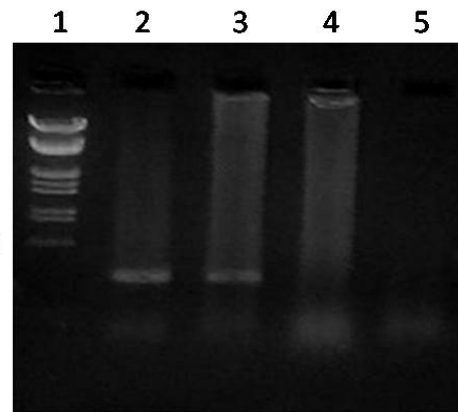
تعیین توالی محصول RT-PCR

محصول RT-PCR پس از الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵ درصد با استفاده از کیت استخراج DNA از ژل (شرکت کیازن آلمان) خالص‌سازی شد و جهت تعیین توالی به شرکت ژن فناوری (ایران) ارسال شد. سپس

دارد. طبیعت فوق العاده مسری تب برفکی و همچنین عفونت پایدار از پیامدهای اصلی زیان بار برای تجارت بین المللی دام و فرآورده های دامی محسوب می گردند (۹).

روش مرسوم شناسایی نشخوارکنندگان حامل ویروس تب برفکی، جداسازی ویروس از نمونه مایع مری- حلقی بر روی کشت سلولی بوده است. این نمونه مخلوطی از موکوس و سلول های پوششی قسمت های قدامی مری و حلق می باشد که توسط فنجانک پروبنگ برداشت می گردد (۱۲ و ۲۰). کمیت حضور ویروس در حلق حیوانات حامل می تواند به طور قابل ملاحظه ای متفاوت باشد و جداسازی ویروس وابسته به زمان و سایر عوامل چون مهارت عامل نمونه گیری و روش نگهداری نمونه می باشد. احتمالاً تنها نیمی از حیوانات حامل توسط یک آزمایش پروبنگ شناسایی خواهند شد (۲۰).

برخی پژوهشگران برای شناسایی حاملین تب برفکی با استفاده از روش های تزیاید اسید نوکلئیک مانند RT-PCR، ژنوم ویروس را در نمونه ها جستجو کرده اند (۷ و ۲۲). Murphy و همکاران (۱۹۹۴) نشان دادند که RT-PCR بسیار حساس تر از روش استاندارد جداسازی ویروس است و می تواند برای تشخیص سریع ویروس تب برفکی در بافت های گاوهای آلوده در دوره عفونت پایدار با ویروس مورد استفاده قرار گیرد (۲۲). Rossi و همکاران (۱۹۸۸) ژنوم ویروس تب برفکی را به وسیله آمیخته گری اسید نوکلئیک در نمونه های مایع مری- حلقی گاوهای حامل که در روزهای ۱۸۰ و ۵۶۰ پس از عفونت تجربی اخذ شده بود، شناسایی نمودند در حالی که جداسازی این ویروس توسط روش های رایج جداسازی امکان پذیر نبود (۲۴). در مطالعه قرشی و همکاران (۱۳۸۰) که بر روی نمونه های بافتی از موارد بالینی بیماری صورت پذیرفت، حساسیت روش RT-PCR بیش از روش های جداسازی ویروس، CFT و ELISA عنوان شد (۳). Donn و همکاران (۱۹۹۴) و Murphy و همکاران (۱۹۹۴) نرم کام پستی را به عنوان بهترین بافت



تصویر ۱: الکتروفورز محصولات RT-PCR در ژل آگارز. ستون ۱ نشان دهنده Ladder فاژ لاند (ساخت شرکت سیناژن-ایران)، ستون های ۲ و ۳ حاوی دو نمونه مثبت در RT-PCR و ستون های ۴ و ۵ به ترتیب حاوی یک نمونه منفی در RT-PCR و کنترل منفی می باشند. کوچکترین قطعه قابل مشاهده Ladder با طول ۵۶۴bp در تصویر مشخص شده است.

Ahwaz/84	GCTGGTCTT	TCCAGTCTA	GAGGGCGAC	ACTTTGTACT	GTGCTTGACT	CCAGCTCGG
A/IRN/2005
A/PAK1/2006
A/PAK3/2006
A/PAK5/2006
Ahwaz/84	TCCACTAGCG	AGTGTAGTA	GCAGCACTGT	TGCTTCGTAG	CGGAGCATGG	TGGCCGTGGG
A/IRN/2005
A/PAK1/2006
A/PAK3/2006
A/PAK5/2006
Ahwaz/84	AACCCCTCCT	TGTTAACAG	GACCCACGGG	GCCGAAAGCC	ACGTCTAAC	GGACCACCA
A/IRN/2005
A/PAK1/2006
A/PAK3/2006
A/PAK5/2006
Ahwaz/84	TGTTGCAAC	CCAGCACGG	CAACTTGTCT	GTGAAAACCA	TTTTAAGGTG	ACACTGATAC
A/IRN/2005
A/PAK1/2006
A/PAK3/2006
A/PAK5/2006
Ahwaz/84	TGTTACTCAA	ACACTGGTGA	CAGGCTAAGG	ATGCCCTCA	GGTACCCGGA	GGCAACAAGC
A/IRN/2005
A/PAK1/2006
A/PAK3/2006
A/PAK5/2006
Ahwaz/84	GACACTGGG	ATCTGAGAAG	GGGACTGG
A/IRN/2005
A/PAK1/2006
A/PAK3/2006
A/PAK5/2006

تصویر ۲: هم ترازوی توالی یکی از محصولات RT-PCR (Ahwaz/84) با توالی مربوطه در جدایه های A/IRN/2005 A/PAK1/2006 A/PAK3/2006 و A/PAK5/2006 با استفاده از برنامه BioEdit

بحث

تب برفکی مسری ترین بیماری زوج سمان است و توان بالقوه زیادی برای ایجاد خسارات شدید اقتصادی

اتفاق احتمالاً در بدن گاو‌میش‌های آسیایی رخ داده است، زیرا این حیوانات تقریباً با سهولت با ویروس تب برفکی آلوده می‌شوند اما معمولاً علائم بالینی را بروز نمی‌دهند و در نتیجه پاسخ ایمنی آماسی حاد و قوی در مقابل سویه دوم ویروس شکل نمی‌گیرد (۲۱). نشان دادن حضور این ویروس در گاو‌میش‌های بدون علامت بیماری در این مطالعه و عدم وجود ویروس در گاو‌هایی که به طور همزمان در مطالعه‌ای موازی مورد بررسی قرار گرفتند (۲) می‌تواند تا حدی تایید کننده این فرضیه باشد. با این حال برای اثبات ارتباط ویروس‌شناسایی شده در این مطالعه با سویه A/IRN/2005 ضروری می‌بود تا مناطق ژنی بیشتری از این ویروس تعیین توالی گردند.

برای بررسی میزان وقوع عفونت پایدار با ویروس تب برفکی Sutmoller و همکاران (۲۰۰۲) فراوانی حامل‌های تب برفکی در گاو‌میش‌های کنیا را حدود ۱/۵ درصد گزارش کردند که با نتایج حاصل از بررسی حاضر هم‌خوانی دارد (۲۸). بهاری و همکاران (۱۳۸۳) آلودگی پایدار با ویروس تب برفکی در گاو‌های کشتار شده در کشتارگاه زیاران را ۳۴/۵۹ درصد عنوان کردند (۶). اگر چه شناسایی حاملین ویروس تب برفکی در جمعیت دامی یک منطقه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است ولی بیشتر مطالعات انجام شده به دنبال عفونت تجربی با ویروس بوده است و یا اینکه پس از عفونت طبیعی با ویروس دام‌های بهبود یافته را از نظر عفونت پایدار تحت بررسی قرار داده‌اند. Hedger (۱۹۶۸) فراوانی جداسازی ویروس در گاو‌های بویس/یندیکوس پس از عفونت طبیعی با سروتیپ SAT₃ را تا ۲۰ درصد گزارش نمود (۱۷). مطالعه انجام شده در ترکیه شیوع عفونت پایدار با ویروس تب برفکی در گاو و گوسفند را ۱۵ تا ۲۰ درصد نشان داده است (۱۵).

واکسیناسیون مؤثر حتی اگر به طور مستقیم نتواند از شکل‌گیری وضعیت حامل در حیوانات در معرض ویروس تب برفکی جلوگیری نماید، از طریق کاهش مقدار ویروس دفعی یا ترشحاتی آزاد شده در محیط و به

برای حضور ویروس در عفونت پایدار تب برفکی در گاو معرفی نمودند (۱۲ و ۲۲). در مطالعه حاضر نیز از ترشحات حلق همراه با بافت مخاطی نرم کام پشتی برای شناسایی حاملین ویروس در عفونت پایدار استفاده شد و انجام آزمایش RT-PCR نشان داد که ۲ درصد از گاو‌میش‌های کشتار شده در کشتارگاه شهر اهواز از نظر وجود ژنوم تب برفکی و در نتیجه آلودگی به ویروس تب برفکی مثبت می‌باشند.

آزمایش Blast نشان داد که توالی به دست آمده در این مطالعه دارای شباهت بسیار زیادی با توالی جدایه A/IRN/2005 و توالی جدایه‌های پاکستانی A/Pak1/2006، A/Pak3/2006 و A/Pak5/2006 می‌باشد. بر اساس مطالعات به عمل آمده در آزمایشگاه مرجع جهانی تب برفکی جدایه A/IRN/2005 که در ترکیه جداسازی شده است تحت تیپ جدیدی از ویروس تب برفکی می‌باشد که از ایران منشأ گرفته و در طی سال‌های ۲۰۰۵ تا ۲۰۰۷ از ایران به سمت غرب به کشورهای دیگر منطقه مانند عربستان سعودی، ترکیه و حتی اردن انتشار یافته است. با این حال شباهت بسیار بالای این ویروس با جدایه‌های پاکستانی A/Pak1/2006، A/Pak3/2006 و A/Pak5/2006 نشان می‌دهد که یا انتشار ویروس به سمت شرق نیز رخ داده و یا آنکه اصولاً منشأ اولیه ویروس کشورهای همسایه در شرق ایران بوده‌اند. بررسی ویژگی‌های ژنومی جدایه A/IRN/2005 حاکی از آن است که ناحیه کد کننده پروتئین‌های ساختمانی ویروس احتمالاً از منشأ سویه A22 تب برفکی است اما بروز و تثبیت جهش‌هایی در این منطقه موجب تمایز آن از سویه A22 می‌گردد. در مقابل ناحیه کد کننده پروتئین‌های غیر ساختمانی ویروس A/IRN/2005 ظاهراً در اثر نوترکیبی از ویروس Asia-1 منشأ گرفته است. با توجه به این یافته‌ها این فرضیه مطرح شده است که این ویروس نوترکیب احتمالاً به دنبال یک عفونت مخلوط با ویروس‌های A22 و Asia-1 و در اثر پدیده نوترکیبی به وجود آمده است. در این رابطه عقیده بر این است که این

جمله عواملی باشند که در بالا بودن موارد شیوع تب برفکی در ایران نقش دارند.

در بررسی حاضر هر چند فراوانی حاملین ویروس تب برفکی در گاو میش های کشتار شده در کشتارگاه اهواز اندک به نظر می رسد ولی از آنجا که در استان خوزستان گاو میش های ماده معمولاً به مدت طولانی (حتی تا ۱۵ سال) نگهداری می شوند، در صورت حامل بودن می توانند طی دوره طولانی حیات خود، محیط و همچنین گاوها و گوسفندان را که در تماس مستقیم با گاو میش ها قرار دارند آلوده نمایند و بدین ترتیب در بروز همه گیری های جدید و به تبع آن افزایش جمعیت نشخوارکنندگان حامل نیز مؤثر باشند. با توجه به اینکه گاو میش ها تحت پوشش برنامه منظم واکسیناسیون قرار ندارند حتی با فرض اینکه کل جمعیت گاوها و گوسفندان استان به طور منظم علیه تب برفکی واکسینه شوند، وجود همین گاو میش های حامل که می توانند تا ۸۰ سال ویروس تب برفکی را در گله حفظ کنند (۲۰)، در پایداری ویروس در محیط نقش به سزایی دارند. از آنجا که وجود وضعیت حامل در گاو میش تنها در گاو میش های آفریقایی و آن هم فقط در مورد سروتپ های آفریقایی ویروس تب برفکی به اثبات رسیده است (۲۰)، بنابراین مطالعه حاضر برای اولین بار نشان داد که وضعیت حامل در گاو میش های آبی ایران نیز وجود دارد.

تبع آن کاهش موارد جدید بیماری، موجب کاهش فراوانی حیوانات حامل خواهد شد (۲۷ و ۳۰). در این ارتباط نشان داده شده است که وقتی حیوانات واکسینه با مقادیر به نسبت اندک ویروس تب برفکی انتشار یافته توسط اشیاء یا انسان مواجه شوند، احتمال بسیار کمی وجود دارد که به صورت حامل در آیند (۲۸). علاوه بر این، دوره حامل در این دامها کوتاه تر و دفع ویروس توسط آنها نیز بسیار کم تر است (۲۷)، بنابراین خطر انتقال تب برفکی از حامل های واکسینه به طور قابل ملاحظه ای پایین و نزدیک به صفر است (۲۸). در خاورمیانه جمعیت گاوها هدف اصلی در واکسیناسیون پیش گیرانه می باشد و واکسیناسیون به عنوان ابزاری جهت جلوگیری از ضرر و زیان اقتصادی استفاده می شود تا روشی برای پیش گیری از گسترش آلودگی (۴). به رغم برنامه واکسیناسیون منظم گاوها در ایران با استفاده از ویروس غیر فعال، هنوز آمار مبتلایان به تب برفکی نگران کننده است. عدم توجه به اهمیت واکسیناسیون به ویژه در سیستم های پرورشی نیمه صنعتی و سنتی و تحت شرایط روستایی، عدم نظارت بر جا به جایی دام در داخل کشور و نیز قاچاق دام از مرزها که در این ارتباط وجود مرزهای خاکی طولانی با کشورهای هم جوار که معمولاً از نظر این بیماری در وضعیت نامناسبی هستند و نقش اپیدمیولوژیک گوسفند، بز و گاو میش در انتشار بیماری تب برفکی، می توانند از

منابع

۳- قرشی سیدعلی، دلیری مرتضی، حاجیان ترانه، بانویی محمدمهدی و الوندی علیرضا (۱۳۸۰). تشخیص ویروس تب برفکی در نمونه های کلینیکی به روش RT-PCR، مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۵۳، صفحات ۱۳-۱۵.

4- Aidaros H.A. (2002). Regional status and approaches to control and eradication of foot- and-mouth disease in the middle east and north Africa. *Revue Scientifique et technique Office International des Epizooties*, 21: 451- 458.

۱- طالب شوشتری عبدالمحمد (۱۳۷۴). تب برفکی (FMD) و وضعیت آن در ایران، مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۲۹، صفحات ۸۵-۸۲.

۲- قانع محسن (۱۳۸۴). بررسی عفونت پایدار با ویروس تب برفکی در تعدادی از گاوهای کشتار شده در کشتارگاه اهواز با استفاده از روش RT-PCR، پایان نامه دکترای عمومی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، شماره ۸۴۵۸۵۷۵، صفحات ۸۵-۸۴.

- 5- Anderson E.C., Doughty W.J., Anderson J. and Paling R. (1979). The pathogenesis of foot-and-mouth disease in the African buffalo (*Syncerus caffer*) and the role of this species in the epidemiology of the disease in Kenya. *Journal of Comparative Pathology*, 89: 541-549.
- 6- Bahari A., Taghipour-Bazargani T., Marquardt O., Ghorashi S.A. and Bokaie S. (2007). Application of nested-PCR for detection of foot-and-mouth disease viral sequences in tonsil of slaughtered cattle with clinically normal appearance in Iran. *Veterinarski Arhiv*, 77: 299-306.
- 7- Barnett P.V. and Carabin H. (2002). A review of emergency foot-and-mouth disease (FMD) vaccines. *Journal of Virological Methods*, 20: 1505-14.
- 8- Belsham G.J. (1993). Distinctive features of foot-and-mouth disease virus, a member of the picornavirus family: aspects of virus protein synthesis, protein processing and structure. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 60: 241-260.
- 9- Blancou J. (2002). History of control of foot-and-mouth disease. *Comparative Immunology and Microbiology of Infectious Diseases*, 25: 283-293.
- 10- Condy J.B., Hedger R.S., Hamblin C. and Barnett I.T.R. (1985). The duration of the foot-and-mouth disease virus carrier state in African buffalo: (i) in the individual animal and (ii) in a free-living herd. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 8: 257-265.
- 11- Donaldson A.I. (1987). Foot-and-mouth disease: the principal lectures. *Irish Veterinary Journal*, 41: 325-327.
- 12- Donn A., Martin L.A. and Donaldson A.I. (1994). Improves detection of persistent foot-and-mouth disease infection in cattle by the polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*, 49: 179-186.
- 13- Esterhuysen J.J., Thomson G.R., Flaman J.R.B. and Bengis R.G. (1985). Buffalo in the northern Natal game parks show no serological evidence of infection with foot-and-mouth disease virus. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 52: 63-66.
- 14- Fenner F., Bachmann P.A., Gibbs E.P.J., Murphy F.A., Studdert M.J. and White D.O. (1993). *Veterinary Virology*, 2nd ed. Academic Press, INC, California, pp: 403-416.
- 15- Gurhan S.I., Gurhan B., Osturkmen A., Aynagoz G., Candas A. and Kizil S. (1993). Establishment of the prevalence of persistently infected cattle and sheep in Anatolia with FMDV. *Etilik Veterinar Mikrobiologij Dergisi*, 7: 52-59.
- 16- Hall T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium*, 41: 95-98.
- 17- Hedger R.S. (1968). The isolation and characterization of foot-and-mouth disease from clinically normal herds of cattle in Botswana. *Journal of Hygiene*, 66: 27-36.
- 18- Hedger R.S. (1970). Observations on the carrier state and related antibody titres during an outbreak of foot-and-mouth disease. *Journal of Hygiene (Cambridge)*, 68: 53-60.
- 19- Hedger R.S. (1972). Foot-and-mouth disease and the African buffalo (*Syncerus caffer*). *Journal of Comparative Pathology*, 82: 19-28.
- 20- Kitching R.P. (2002). Identification of foot-and-mouth disease virus carrier and subclinically infected animals and differentiation from vaccinated animals. *Revue Scientifique et technique Office International des Epizooties*, 21: 531-538.
- 21- Klein J., Hussain M., Ahmad M., Normann P., Afzal M. and Alexanderson S. (2007). Genetic characterisation of the recent foot-and-mouth disease virus subtype A/IRN/2005. *Virology Journal*, 4: 122.
- 22- Murphy F.A., Gibbs E.P.J., Horzinek M.C. and Studdert M.J. (1994). *Veterinary Virology*, 3rd ed. Academic Press, London. Pp: 521-528.
- 23- Radostits O.M. (2001). *Herd Health*, 3rd ed. W.B. Saunders Company, London, pp: 683-684.
- 24- Rossi M.S., Sadir A.M., Schudel A.A. and Palma F.L. (1988). Detection of foot-and-mouth disease virus with DNA probes in bovine esophageal-pharyngeal fluids. *Archive of Virology*, 99: 67-74.
- 25- Salt J.S. (1993). The carrier state in foot-and-mouth disease virus from Japanese Black cattle in Mivazaki prefecture, Japan, 2001. *Journal of Veterinary and Medical Science*, 64: 91-94.
- 26- Salt J.S., Mulcahy G. and Kitching R.P. (1996). Isotype-specific antibody response to foot-and-mouth disease virus in sera and secretions of carrier and non-carrier cattle. *Epidemiology of Infectious Diseases*, 117: 349-360.
- 27- Sutmoller P., Barteling S.S., Olascoaga R.S. and Sumptoin K.J. (2003). Control and eradication of foot-and-mouth disease. *Virus Research*, 91: 101-144.
- 28- Sutmoller P. and Olascoaga R.C. (2002). Unapparent foot and mouth disease infection (sub-clinical infections and carries): implications for control. *Revue Scientifique et technique Office International des Epizooties*, 21: 519-529.

29- Suttmoller P., Thomson G.R., Hargreaves S.K., Foggin C.M. and Anderson C.E. (2000). The foot-and-mouth disease risk posed by African buffalo within wildlife conservancies to the cattle industry of Zimbabwe, *Preventive Veterinary Medicine*, 44: 43-60.

30- Woodbury E.L. (1995). A review of the possible mechanisms for the persistence of foot-and-mouth disease virus. *Epidemiology of Infectious Diseases*, 114: 1-13.

31- Zhang Z.D. and Kitching R.P. (2001). The localization of persistent foot-and-mouth disease virus in the epithelial cells of soft palate and pharynx. *Journal of Comparative Pathology*, 124: 89- 94.

32- Zhang Z., Schwartz S., Wagner L. and Miller W. (2000). A greedy algorithm for aligning DNA sequences, *Journal of Computational Biology*, 7(1-2): 203-214.