

بررسی میزان آلودگی سرمی به ویروس بلوتانگ در گوسفندان شهرستان خوی با استفاده از روش الایزای رقابتی

محسن ایماندار^{۱*}، علی حسن پور^۲، میرحسین حسن زاده^۳، فرهاد موسی خانی^۴، سیدعلی پوربخش^۵

چکیده

بیماری زبان آبی یکی از بیماری‌های ویروسی نشخوارکنندگان، جزو خانواده رتوویریده و جنس اوربویروس می‌باشد که توسط پشه‌های خانواده کولیکوئیدس انتقال می‌یابد. هدف از این مطالعه، بررسی میزان آلودگی سرمی به ویروس بلوتانگ در گوسفندان خوی بود. این مطالعه بر روی ۲۰۰ نمونه خون اخذ شده به طور تصادفی از ۱۹ گله گوسفند و ۷ روستا در شهرستان خوی انجام گرفت. از این تعداد ۱۶۰ رأس ماده و ۴۰ رأس نر در گروه‌های سنی مختلف بودند. سرم‌ها با استفاده از روش الایزای رقابتی برای بررسی آنتی‌بادی‌های سرمی ویروس بلوتانگ مورد مطالعه قرار گرفتند و نتایج مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج نشان داد که از تعداد ۲۰۰ نمونه اخذ شده، تعداد ۱۳۴ سرم (۶۷٪) مثبت و ۶۶ نمونه (۳۳٪) منفی بودند. میزان آلودگی سرمی در میش‌ها بیشتر از گوسفندان نر بود (به ترتیب ۶۹/۳۷٪ و ۵۷/۵۰٪) ولی از نظر تجزیه و تحلیل آماری، اختلاف بین دو جنس نر و ماده معنی‌دار نبود ($p > 0/05$). از نظر گروه‌های سنی مختلف، گروه ۴-۳ سال بالاترین میزان آلودگی را دارا بودند که بر اساس آنالیز آماری، بین رده‌های سنی مختلف از نظر ابتلاء به آلودگی سرمی ویروس زبان آبی اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p < 0/05$). نتایج نشان داد که آنتی‌بادی بر علیه ویروس بلوتانگ در گوسفندان شهرستان خوی وجود دارد و ویروس در منطقه در حال چرخش می‌باشد و بایستی اقدامات لازم در خصوص کنترل و پیشگیری بیماری انجام گیرد.

واژگان کلیدی: آلودگی سرمی، ویروس بلوتانگ، گوسفند، الایزا، شهرستان خوی

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۲۰

مقدمه

بلوتانگ (Blue tongue) یا زبان آبی بیماری ویروسی است که توسط نوعی اوربویروس از خانواده رتوویریده ایجاد می‌شود. این بیماری بیشتر در گوسفند و همچنین گاو اتفاق

می‌افتد (۱۲ و ۱۰) و عامل آن توسط پشه‌های کولیکوئیدس منتقل می‌شود (۱۳ و ۱۶). بیماری در گوسفند اهمیت بیشتری دارد ولی شدت آن بر حسب سویه ویروس و اکولوژی منطقه متفاوت است. بلوتانگ ممکن است خفیف و تحت درمانگاهی و یا بسیار شدید و کشنده باشد. خسارات اقتصادی بیماری مربوط به مرگ گوسفندان و یا لاغری و کاهش وزن آنها در صورت زنده ماندن است. آلودگی در مناطق استوایی و نیمه استوایی بوده و در مناطقی که ناقلین به تعداد زیاد فعالیت می‌کنند، بیماری شکل بالینی نیز پیدا می‌کند. نشانه‌های بالینی بیماری به شکل تب، تورم دهان، رینیت، آنتریت و لنگش به دلیل پرخونی تاج سم و میوزیت می‌باشد (۱۶). عوامل متعددی در ایجاد سقط‌جنین، مرده‌زایی و ضررهای اقتصادی حاصل از آن در میش‌های منطقه آذربایجان ممکن است دخیل باشند. یکی از عوامل عفونی که تا بحال کار تحقیقاتی در خصوص تأیید یا رد این عامل در این منطقه انجام نگرفته است، شناسایی و جداسازی ویروس بلوتانگ می‌باشد.

برای تشخیص بیماری زبان آبی علاوه بر توجه به نشانی‌ها و آثار کالبدگشایی، بایستی اقدام به جداسازی خود عامل کرد. تزریق خون حیوانات تب‌دار به بره‌های حساس، تزریق به موش‌های شیرخوار و یا هامسترهای شیرخوار و نیز تزریق خون از راه داخل وریدی به جنین مرغ، روش‌هایی جهت جداسازی عامل بیماری می‌باشند. آزمایش‌های سرمی متعددی برای شناسایی این بیماری وجود دارد؛ نظیر واکنش ثبوت

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه پاتوبیولوژی، تهران، ایران
dr.imandar@gmail.com

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، تبریز، ایران

۳- شبکه دامپزشکی شهرستان خوی، اداره کل دامپزشکی، استان آذربایجان غربی، خوی، ایران

۴- دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج، ایران

۵- گروه پژوهشی پاستور، تهران، ایران

مکمل، ژل دیفیوژن، ایمونوفلورسنت، واکنش خنثی شدن و کاهش پلاک‌های حاصل از ویروس که همگی دارای یک ارزش هستند. آزمایش‌هایی که به تازگی برای شناسایی سریع زبان آبی به جریان افتاده و در ریشه‌کنی این بیماری به کار می‌روند، عبارتند از: آزمایش ELISA، رادیوایمونواسی و PCR. بررسی‌های انجام گرفته از نظر آلودگی سرمی به ویروس زبان آبی در نقاط مختلف جهان، نشان از حساسیت و ویژگی بالای تست الایزای رقابتی نسبت به سایر روش‌های سرولوژیک دارد (۱۹ و ۴،۵).

مطالعات فراوانی در سایر نقاط جهان در زمینه بررسی شیوع ویروس زبان آبی انجام گرفته است. تا دهه ۱۹۴۰ بیماری زبان آبی فقط در آفریقا شناخته شده بود. از آن پس وجودش در کشورهای شرق مدیترانه نیز مورد تأیید قرار گرفت. در سال‌های ۱۹۷۵-۱۹۵۶ واگیری عمده‌ای از این بیماری در پرتغال و اسپانیا بروز کرد و صدها هزار گوسفند را مبتلا ساخت. در اواخر دهه ۱۹۷۰ معلوم شد که ویروس زبان آبی در کشورهای استوایی و تحت استوایی بیش از آنچه که تصور می‌شد، شیوع دارد. ویروس در چندین کشور بدون اینکه آثاری ایجاد کند، جدا شده است. در حال حاضر آلودگی با ویروس زبان آبی در آفریقای جنوبی و غربی، خاورمیانه، ایالات متحده آمریکا، استرالیا و برخی از کشورهای آمریکای جنوبی تشخیص داده شده است و ماهیت آن به عنوان عامل بیماری زبان آبی به وسیله آزمایش‌های سرمی مشخص شده است. بیماری به طور گسترده در اروپا، شمال، مرکز و جنوب آمریکا، آفریقا و خاورمیانه، شبه قاره هند، چین، جنوب آسیا و استرالیا حضور دارد (۱۵).

در ایران رخداد بیماری به شکل بالینی سال‌های زیادی است که گزارش نشده است، هرچند که در گزارش حسامی و قابوسی در سال ۱۳۵۳ احتمال وجود عفونت بر اساس یافته‌های بالینی در گوسفندان ایران ذکر شده است. احتمال

آلودگی سرولوژیک به این ویروس در گوسفندان ایران وجود دارد (۲) ولی تاکنون گزارش مستندی مبنی بر تأیید جداسازی و شناسایی ویروس در ایران ارائه نشده است. در حال حاضر این بیماری در کشور ترکیه شایع بوده و واکسیناسیون علیه آن در این کشور انجام می‌گیرد (۹). با عنایت به اینکه منطقه آذربایجان با چند کشور مثل ترکیه، عراق و جمهوری آذربایجان ارتباط مرزی دارد، امکان انتقال ویروس بلوتانگ از این کشورها به گوسفندان منطقه آذربایجان ایران وجود داشته که در این کشورها وجود ویروس یا آلودگی به ویروس تأیید شده است (۱۷ و ۱۲).

هدف از این مطالعه، تعیین میزان آلودگی سرمی به ویروس بلوتانگ با استفاده از آزمایش الایزای رقابتی در گوسفندان شهرستان خوی بود. در روش رقابتی اساس سنجش بر رقابت دو آنتی‌ژن یا دو آنتی‌بادی که یکی از آن دو نشاندار است، برای اتصال به لیگاند با مقدار محدود استوار است. اگر هر دو آنالیت نشاندار و غیرنشاندار با هم به سیستم اضافه شوند، روش را رقابتی و چنانچه ابتدا آنالیت اضافه شده و پس از یک دوره انکوباسیون آنالیت نشاندار اضافه گردد، روش را مهار می‌نامند. در روش رقابتی برای آنتی‌بادی، رقابت بین دو آنتی‌بادی یکی در نمونه به صورت غیرنشاندار و یکی به صورت نشاندار شده با آنزیم برای اتصال به یک آنتی‌ژن پوشش‌دهی در چاهک صورت می‌پذیرد، بدیهی است که هر چه مقدار آنتی‌بادی نمونه بیشتر باشد، آنتی‌بادی نشاندار کمتری به چاهک‌ها متصل شده و سیگنال نیز کمتر خواهد بود و در نتیجه منحنی استاندارد نیز معکوس می‌باشد.

مواد و روش کار

در این مطالعه، جامعه آماری گوسفندان شهرستان خوی بوده که ۷ روستا و ۱۹ گله به صورت تصادفی انتخاب و نمونه‌گیری انجام شد. در این مطالعه در مجموع ۲۰۰ نمونه سرم شامل ۱۶۰

کننده زرد رنگ می‌گردید و در صورت وجود آنتی‌بادی در سرم تغییر رنگی حاصل نشد. میکروپلیت‌ها با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید. ترکیبات کیت شامل: میکروپلیت پوشیده شده با پروتئین VP7، کونژوگه ضد VP7، کنترل مثبت، کنترل منفی، بافر رقیق کننده، محلول شستشو، محلول سوبسترا، محلول متوقف کننده (اسید سولفوریک ۵٪). برای انجام تست ابتدا محلول‌ها و معرف‌ها را در دمای اتاق (۲۱±۵) درجه سانتی‌گراد قرار داده و کاملاً به هم زده و سپس به شرح توصیه شده در کیت فوق عمل گردید. درصد مثبت بودن (PP)(present positive) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$PP = \frac{OD_{\text{sample}}}{OD_{\text{nc}}} \times 100 \quad (OD_{\text{nc}} = \text{Optical density of negative control})$$

درصد (PP) بیشتر از ۴۰٪، منفی و کمتر یا مساوی ۴۰٪، مثبت در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آمار توصیفی و استنباطی انجام گرفت. جهت مقایسه میانگین درصد مثبت بودن تست در دام‌های نر و ماده از آزمون‌های T (T-test) استفاده گردید و اطلاعات حاصل از نمونه‌ها با استفاده از آزمون مربع کای (chi-square) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS انجام شد.

نمونه سرم میش و ۴۰ نمونه سرم قوچ جمع‌آوری گردید. روش نمونه‌گیری تصادفی طبق (Stratified Random Sampling) بود. روش تحقیق، توصیفی-آماري و روش گردآوری اطلاعات، میدانی و ابزار گردآوری اطلاعات تجهیزات آزمایشگاهی بود. در این بررسی، با مراجعه به گوسفندداریهای مختلف شهرستان در هر گله، خونگیری از گوسفندان با سیستم ونوجکت از ورید و داج انجام و پس از لخته شدن خون در آزمایشگاه شبکه دامپزشکی شهرستان خوی، با سانتریفیوژ سرم جدا و در لوله‌های میکروتیوب جمع‌آوری و در فریزر ۲۰°C- نگهداری گردید. نمونه‌ها بصورت فریز شده به آزمایشگاه سرولوژی ارسال و در آزمایشگاه با روش ELISA و با استفاده از کیت تجاری-ID VET (کد محصول: BTC-4P) میزان آلودگی سرولوژیک مشخص گردید.

این کیت تشخیصی جهت شناسایی آنتی‌بادی‌های تولید شده در سرم بر علیه پروتئین VP7 ویروس بلوتانگ طراحی شده است. نمونه‌های تست و کنترل در گوده‌های میکروپلیت مخصوص این کیت ریخته شد. در صورت وجود آنتی‌بادی علیه پروتئین VP7، واکنش آنتی ژن - آنتی‌بادی صورت گرفته و اپی‌توپ‌های VP7 ردیابی گردید. کونژوگه پروکسیداز ضد VP7 به گوده‌ها اضافه می‌شد که با ترکیب با اپی‌توپ VP7، کمپلکس آنتی ژن- پروکسیداز را داد. بعد از شستشو به منظور ردیابی کونژوگه، محلول سوبسترا اضافه گردید. تغییر رنگ بسته به میزان آنتی‌بادی‌های موجود در یک نمونه متفاوت بود. در صورت عدم وجود آنتی‌بادی، رنگ آبی حاصل شده که بعد از اضافه نمودن محلول متوقف

نتایج

جدول ۱- فراوانی موارد مثبت و منفی از نظر بلوتانگ در گوسفندان شهرستان خوی به تفکیک شماره روستا

شماره روستا	تعداد	نتیجه تست		جنس	
		+	-	ماده	نر
روستای ۱	۳۰	۱۶	۱۴	۱۳	۴
روستای ۲	۳۰	۲۷	۳	۲۲	۰
روستای ۳	۴۰	۱۴	۲۶	۱۴	۶
روستای ۴	۱۷	۱۴	۳	۱۴	۰
روستای ۵	۱۸	۱۲	۶	۱۱	۴
روستای ۶	۲۵	۱۷	۸	۱۶	۴
روستای ۷	۴۰	۳۳	۷	۲۰	۰
کل	۲۰۰	۱۳۴	۶۶	۱۱۱	۱۷

در جدول ۲ که میانگین عیار آنتی بادی در گروه‌های نر و ماده می‌باشد، به ترتیب تعداد (N)، میانگین (Mean)، انحراف معیار (SD) و خطای استاندارد (SE) در هر گروه محاسبه گردیده است:

گروه سنی	موارد مثبت و منفی		کل
	تعداد مثبت	تعداد منفی	
گوسفندان ۲ و ۱ ساله	۲۷	۳۰	۵۷
گوسفندان ۳ و ۴ ساله	۵۰	۲۴	۷۴
گوسفندان ۵ و ۶ ساله	۴۵	۹	۵۴
گوسفندان ۶ سال به بالا	۱۲	۳	۱۵
کل	۱۳۴	۶۶	۲۰۰

جدول ۲- شاخص‌های پراکندگی درصد مثبت بودن (pp) تست سرولوژیک بلوتانگ در گوسفندان شهرستان خوی به تفکیک جنسیت

جنس	N	Mean	SD	SE
نر	۴۰	۳۳/۵۶	۴۲/۳۸۳	۶/۶۱۹
ماده	۱۶۰	۳۲/۹۸	۴۰/۲۶۳	۳/۲۰۳

فراوانی نسبی موارد سرمی مثبت بر حسب سن دام‌ها به ترتیب: ۲ و ۱ ساله‌ها (۲۰/۱۴٪)، ۴ و ۳ ساله‌ها (۳۷/۳۲٪)، ۵ و ۶ ساله‌ها (۳۳/۵۹٪) و گوسفندان با سن بالاتر از ۶ سال (۸/۹۵٪) بود. با توجه به آنالیز آماری نتایج، اختلاف بین رده‌های سنی مختلف معنی‌دار بود ($p < 0/01$) و به همین دلیل گروه‌ها مجدداً دوبه‌دو با هم مقایسه شدند تا مشخص گردد کدامین دو گروه مختلف، با هم اختلاف معنی‌دار دارند. اختلاف بین گروه‌های سنی ۲ و ۱ ساله و ۳ و ۴ ساله معنی‌دار ($p < 0/05$)، بین گروه‌های سنی ۲ و ۱ ساله و ۶ و ۵ ساله

بر اساس آزمون T-test اختلاف معنی‌داری بین دام‌های نر و ماده از لحاظ میانگین درصد مثبت بودن تست بلوتانگ وجود نداشت. همچنین آنالیز نتایج بر اساس آزمون کای (chi-square) نشان داد که در این مطالعه، بین موارد مثبت و منفی در بین دام‌های نر و ماده اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($p > 0/05$). آنالیز نتایج بر اساس سن دام‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است.

بسیار معنی‌دار ($p < 0/05$)، گروه‌های ۲ و ۱ ساله با ۶ سال به بالا معنی‌دار و نیز اختلاف بین گروه‌های سنی ۴ و ۳ ساله و ۶ و ۵ ساله معنی‌دار می‌باشد. این در حالی است که در مقایسه اختلاف بین گروه‌های ۶ و ۵ ساله و ۶ سال به بالاتر و نیز مقایسه بین دو گروه ۴ و ۳ ساله و ۶ سال به بالاتر هیچ اختلاف معنی‌داری به چشم نمی‌خورد ($p > 0/05$).

با یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان چنین دریافت که بین رده‌های سنی مختلف گوسفندان منطقه مورد مطالعه، از نظر میزان آلودگی سرمی به ویروس زبان آبی، اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p < 0/05$).

بحث

در مطالعه حاضر جهت بررسی وجود آنتی‌بادی ضد بلوتانگ (BTV) از کیت ID-VET استفاده گردید. بر اساس نتایج حاصل از مطالعاتی که توسط Batten و همکاران (۲۰۰۷) در سطح آزمایشگاه‌های فرانس زبان آبی در اروپا صورت گرفته است، کارایی این کیت از نظر سرعت عمل بسیار بالاتر از کیت‌های مشابه جهت تشخیص آنتی‌بادی علیه ویروس بلوتانگ بوده و ویژگی آن صددرصد می‌باشد. این کیت قادر است کلیه ۲۴ سروتیپ ویروس زبان آبی را شناسایی نماید. تنها نقطه ضعف c-ELISA حساسیت محدود آن می‌باشد (۶). علت این تأخیر تشکیل آنتی‌بادی می‌باشد که این زمان حدود ۷ الی ۲۸ روز پس از آغاز عفونت می‌باشد. طبیعی است که در این دوره حساسیت تست پائین است اما بعد از دوره مذکور حساسیت تست در حد ۱۰۰٪ می‌باشد (۷ و ۱۸).

Bastawecy (۲۰۰۶) در بررسی آزمایش الایزای رقابتی که در تشخیص ویروس زبان آبی در کشور مصر و برای نمونه‌های سرم خون گوسفند، بز و گاوهای به ظاهر سالم از هر دو جنس در طول چهار فصل سال جمع‌آوری گردید، ۵۴/۵٪ آلودگی گزارش کردند. آنها این‌گونه استدلال نمودند که به دلیل عدم وجود برنامه واکسیناسیون در کشور مصر، تست الایزای رقابتی

به دلیل حساسیت، ویژگی و صحت، یک تست خوب برای ارزیابی سرمی این بیماری در سطح ملی می‌باشد (۵). Smiriti (۲۰۰۵) در یک بررسی سرولوژیک مقایسه‌ای برای تعیین آلودگی ویروس زبان آبی در گله‌های بومی گوسفند و بز در ایالت راجستان در هند، حساسیت و ویژگی تست الایزای رقابتی را بالاتر از کانترایمونوالکتروفورز و آگار ژل ایمنودیفیوژن گزارش کردند (۱۹). Barratt و همکاران (۲۰۰۶) نتیجه گرفتند که تست الایزای رقابتی برای ارزیابی سرمی آلودگی با ویروس زبان آبی نسبت به تست خشتی سازی سرم دارای حساسیت بیشتری می‌باشد (۴). Akhtar و همکاران (۱۹۹۷) در مطالعه شیوع ویروس زبان آبی در گوسفند در شمال غربی کشور پاکستان به روش الایزای رقابتی، آنتی‌بادی ضد ویروس زبان آبی را در ۴۸/۴٪ و ۸۹/۵٪ از گله‌های مورد بررسی گزارش کردند (۳).

نتایج این تحقیق وجود آنتی‌بادی بر علیه ویروس بلوتانگ را در گوسفندان شهرستان خوی تأیید نمود که درصد مثبت بودن آنتی‌بادی سرمی در این منطقه در گوسفندان ۶۷٪ بود که در تمامی مناطق مورد مطالعه، درصد آلودگی مثبت گزارش گردید. مطالعات مشابه فراوانی در سایر نقاط جهان در جهت تعیین میزان آلودگی سرمی به ویروس بلوتانگ انجام گرفته است. در سال ۱۹۸۹ طی مطالعه‌ای توسط Stott و همکاران در مکزیک درصد آلودگی سرمی گوسفندان به ویروس بلوتانگ ۳۵٪ و گاوها ۶۹٪ گزارش شده است (۲۰). Woldemeskel در سال ۱۹۸۳ توسط ویت زمان گزارش شده است (۲۲). در سال ۱۹۸۳ Della-Porta و همکاران عیار سرمی آنتی‌بادی ویروس بلوتانگ در سرم گوسفندان و گاوان استرالیا را با روش SN بررسی و درصد آلودگی گوسفندان را ۲۲٪ گزارش نموده‌اند (۸). Ventura و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی

سن کم در معرض خطر کمتری در جهت ابتلا به این بیماری قرار دارند. این در حالی است که حیوانات مسن تر به علت تعدد بالای جفت‌گیری با قوچ‌های گله که دچار آلودگی شدیدتری هستند، در معرض خطر بیشتری برای درگیری با ویروس بلوتانگ قرار دارند. نتایج این تحقیق و افزایش فراوانی موارد سرمی مثبت با یافته‌های Lundervold (۲۰۰۳) همخوانی دارد. در این مطالعه میزان آلودگی سرمی ویروس زبان آبی در گاو و گوسفند ۲۳/۲٪ بیان شد (۱۴).

به طور کلی در این مطالعه، ضمن استفاده از تست الایزای رقابتی نشان داده شد که گوسفندان شهرستان خوی آلوده به ویروس بلوتانگ می‌باشند و ضروری است نسبت به جداسازی و شناسایی سروتیپ‌های مختلف ویروس بلوتانگ از دام‌های مشکوک و ناقلین اقدام گردد. همچنین لازم است جهت کنترل و پیشگیری از این بیماری اقدامات پیشگیری کننده شامل واکسیناسیون و مبارزه با حشرات و حذف ناقلین انجام پذیرد.

فهرست منابع

۱- بکائی، س.، کارگر موخر، ر.، موسوی، م.، شریفی، ل.، رامین، ع.، ارس خانی، ع. (۱۳۸۶): بررسی سرولوژیک بیماری زبان آبی در گله‌های گوسفند آذربایجان غربی، مجله دامپزشکی ایران، ۳ (۳): ۸۳-۸۱.

2. Afshar, A., Kayvanfar, H. (1974): Occurrence of precipitating antibodies to bluetongue virus in sera of farm animals in Iran. The Vet. Record. 94(11): 233-235.
3. Akhtar, S., Djalle, N., Shad, G., Thieme, O. (1997): Bluetongue virus seropositivity in sheep flocks in North West Frontier Province, Pak. Prev. Vet. Med. 29 (4): 293-298.
4. Barratt-boyses, S.M., Maclachlan, N.G. (1995): Pathogenesis of bluetongue virus infection of cattle. J. Vet. Med. 206: 1322-1329.
5. Bastawecy, I.M., EL-Fayoumi, M.M. (2006): Competitive ELISA test for diagnosis of Bluetongue in Egypt. <http://www.en.engormix.com/MA-dairy-cattle/articles/competitive-elisa-test-diagnosisist248/p0.htm>.

سرولوژیک این بیماری در آلبانی به روش الایزا واکنش موارد مثبت به ویروس زبان آبی را در گاو ۱۸/۹٪ و در گوسفند و بز ۴/۴٪ گزارش نمودند (۲۱).

در مطالعات سرولوژیک صورت گرفته بر روی ویروس بلوتانگ در سال ۱۹۷۴ در ایران توسط افشار و کیوانفر با روش رسوب آنتی‌بادی، آلودگی به ویروس بلوتانگ تأیید شده است. در این مطالعه، وجود آنتی‌بادی ضد ویروس زبان آبی در سرم ۲۹۲۱ رأس از حیوانات اهلی ذبح شده در کشتارگاه تهران و شیراز مورد ارزیابی قرار گرفت و فراوانی آنتی‌بادی در سرم گوسفندان ۷/۶٪ گزارش شد (۲). بکایی و همکاران در سال ۱۳۸۶ فراوانی سرولوژیک بیماری زبان آبی در گله‌های گوسفند آذربایجان غربی را با استفاده از تست آگار ژل دیفیوژن ۶۳/۱٪ اعلام کردند. در این مطالعه، از تعداد ۳۸۲ نمونه مورد آزمایش، تنها ۳۵ نمونه متعلق به شهرستان خوی بوده است. آنها نشان دادند که از ۳۵ نمونه، تعداد ۲۰ (۵۷/۱٪) نمونه مثبت و تعداد ۱۵ (۴۲/۹٪) نمونه منفی بود (۱). نتایج مطالعه حاضر با مطالعه فوق اختلاف جزئی دارد و با توجه به تعداد نمونه بیشتر اخذ شده در این مطالعه و روش الایزای رقابتی مورد استفاده، (مطالعات متعددی حاکی از حساسیت بالاتر تست الایزا نسبت به آگار ژل دیفیوژن دارد) درصد میزان آلودگی سرمی در شهرستان خوی به واقعیت نزدیک‌تر می‌باشد.

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که میزان آلودگی دام‌های نر بیشتر از دام‌های ماده بود، هرچند که این تفاوت معنی دار نبود. حسن پور و همکاران (۲۰۰۸) شیوع سرمی آلودگی به ویروس زبان آبی در گوسفندان آذربایجان شرقی را به روش الایزا، ۷۶/۴۴٪ اعلام نمودند. در این بررسی، شیوع آلودگی در دو جنس نر و ماده به ترتیب ۷۸/۲۶٪ و ۷۰/۲۱٪ بود (۱۱).

در این بررسی، بالاترین میزان آلودگی ویروس بلوتانگ در بین گروه‌های سنی مختلف در گوسفندان، به گروه سنی ۴-۳ سال تعلق داشت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که حیوانات با

6. Batten, C.A., Bachanek-Bankowska, K., Bin-Tarif, A., Kogosana, L., Swain, A.J., (2007): bluetongue virus: European Community inter-laboratory comparison tests to evaluate ELISA and RT-PCR detection methods. *Vet. Microbiol.* 11:1-9.
7. Biteau-Coroller, F., Gerbier, G., Stark, K.D.C., Grillet, C. (2006): Performance evaluation of competitive ELISA test used for bluetongue antibody detection in France, a recent infected area. *Vet Micro.* 118:57-66.
8. Della-Porta, A. J., Sellers, R. F., Herniman, K. A., Littlejohns, I. R., Cybinski, D. H., St George, T. D., McPhee, D. A., Snowdon, W. A., Campbell, J., Cargill et al. (1983): Serological studies of Australian and Papua New Guinean cattle and Australian sheep for the presence of antibodies against bluetongue group viruses. *Vet. Micro.* 8(2):147-162.
9. Erturk, A., Tatar, N., Kabakli, O., Incoglu, S., Cizmeci, G.S., Barut, F.M., (2004): The current situation of bluetongue in Turkey. *Vet. Ital.* 40(3): 137-140.
10. Fayza, A. O., Abu Elzein, E. M., Tag Eldin, M. H., Hajer, I. E. (1990): Susceptibility of Sudanese sheep to a bluetongue virus isolated from apparently healthy cattle in the Sudan. *Revue d'Elevage Et De Medecine Veterinaire Des Pays Tropicaux.* 43(3):313-316.
11. Hasanpour, A., Mosakhani, F., Mirzaii, H., Mostofi, S. (2008): Seroprevalence of bluetongue virus Infection in sheep in East-Azerbaijan Province in Iran. *Res. J. Bio. Scie.* 3(11):1265-1270
12. Jennings, M., Boorman, J. P., Ergün, H. (1983): Culicoides from western turkey in relation to bluetongue disease of sheep and cattle. *Revue d'Elevage Et De Medecine Veterinaire Des Pays Tropicaux.* 36(1): 67-70.
13. Luedke, A. J., Jones, R. H., Jochim, M. M. (1967): Transmission of bluetongue between sheep and cattle by *Culicoides variipennis*. *American Journal Of Veterinary Research.* 28(123):457-460.
14. Lundervold, M., Milner-Gulland, E.J., O'Callaghan, C.J., and Hamblin, C. (2003): First evidence of blue tongue virus in Khazakhtan. *Vet Micro.* 92(3): 281-7.
15. Mellor, P. S., and Boorman, J. (1995): The transmission and geographical spread of African horse sickness and bluetongue viruses. *Annals Trop. Med. Parasit.* 89: 1-15.
16. Radostitis, O.M., Blood, D. C., Hinchliff, K.W. and Constable, P.D. (2007): *Veterinary medicine*, 10th edition, Saunders. PP: 1299-1305
17. Randall, S., Singer, Walter M. Boyce, Ian A. Gardner, Wesley O. Johnson and Amy S. Fisher. (1998): Evaluation of bluetongue virus diagnostic tests in free-ranging bighorn sheep. *Prev. Vet. Med.* 35(4):265-282.
18. Singer, R.S., Boyce, W.M., Gardner, I.A., Johnson, W.O., Fisher, A.S. (1998): Evaluation of bluetongue virus diagnostic in free-ranging bighorn sheep. *Prev. Vet. Med.* 35:265-282.
19. Smiriti, S., Shringi, B.N. (2005): Comparative efficacy of standard AGID, CCIE and competitive ELISA for detecting Bluetongue virus antibodies in indigenous breeds of sheep and goats in Rajasthan. *Indian J. Vet. Science.* 6(1):77-79.
20. Stott, J. L., Blanchard-Channell, M., Osburn, B. I., Riemann, H. P., Obeso, R. C. (1989): Serologic and virologic evidence of bluetongue virus infection in cattle and sheep in Mexico, *Amer. J. Vet. Res.* 50(3):335-340.
21. Ventura, D.M., Tittarelli, M., Semproni, G., Bonfini, B., Savini, G., Cont, A., Like, A. (2004): Serological surveillance of bluetongue virus in cattle, Sheep, and Goats in Albania. *Vet. Ita.* 40(3):101-104.
22. Weitzman, G. L., Stem, E. C., Gilfillan, R. S., Lindenmayer, J. M. (1991): Preliminary serological survey for bluetongue and toxoplasmosis in sheep in Niger, *Tropical Anim. Heal. Produc.* 23 (4): 258.
23. Woldemeskel, M., Tilahun, G., Tibbo, M., Potgieter, L. N. (2002): Prevalence of bluetongue virus antibodies in sheep in central Ethiopia, *DTW. Deuts. Tierarz. Woche.* 107(10): 408-410.