Iranian Journal of Animal Science
Vol 51, No 2, Summer 2020 (163-171)
DOI: 10.22059/ijas.2020.293619.653757

علوم دامی ایران
دورۀ ۵۱، شمارۀ ۲، تابستان ۱۳۹۹ (ص ۱۷۱-۱۶۳)

بررسی کارایی استراتژی‌های به‌کاررفته برای کنترل بیماری BVD در نژاد هلشتاین

مونا خلقی[۱]، محمد مرادی شهربابک[۲*]، مصطفی صادقی[۳]، سید رضا میرائی آشتیانی[۲]، محمد مهدی رنجبر[٤] و محسن لطفی[٥]
۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، پردیس بین‌المللی ارس، دانشگاه تهران، ایران
۲ و ۳. استاد و دانشیار، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
٤ و ٥. استادیار و دانشیار، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۵/۲۱)

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی شیوع اسهال ویروسی گاوان (BVD) و نحوه عملکرد اقدامات صورت‌گرفته در جهت کنترل این بیماری طی ۵۰ سال اخیر در برخی از استان‌های کشور جهت مبارزه با این بیماری انجام شد. بدین منظور، از ۵۰۰ رأس گاو هلشتاین متعلق به سه گاوداری صنعتی بسیار موفق در سه استان تهران، اصفهان و قزوین به‌صورت تصادفی نمونه خون تهیه و با تکنیک الایزا تیتر آنتی‌بادی و آنتی‌ژن اندازه‌گیری شد. همچنین به‌منظور اطمینان از حضور و تعیین تیپ ویروس‌ها، تمامی نمونه‌های مثبت از طریق تکنیک مولکولی RT-PCR مورد سنجش قرار گرفتند. سپس دستورالعمل‌های کنترل BVD این واحدهای صنعتی بزرگ بررسی شد. نتایج این تحقیق نشان داد میزان الایزا -Ab-/Ag، -Ab+/Ag، +Ab-/Ag و +Ab+/Ag به‌ترتیب ۱۰/۲، ۷۸/۸، ۷/۲ و ۳/۸ درصد بوده است. شیوع آلودگی آنتی‌بادی و آنتی‌ژن در مجموع سه گاوداری به‌ترتیب حدود ۸۰ و ۱۱ درصد گزارش شد که از این میان حدود ۲/۸ درصد حیوانات، عفونی مولد (PI) بودند و تفاوت معنی‌داری بین سه گاوداری مشاهده نشد. همچنین نتایج RT-PCR نشان داد همه نمونه‌های مثبت از نوع تیپ ۱ ویروس بوده و تیپ ۲ در این پژوهش گزارش نشد. نتایج این تحقیق با توجه به شیوع بالای بیماری نشان می‌دهد، پروتکل‌های به‌کاررفته جهت کنترل این بیماری از کارایی مناسب برخوردار نبوده‌اند. بنابراین به‌نظر می‌رسد مهم‌ترین اقدام جهت مبارزه جدی با این بیماری علاوه بر اعمال اصول امنیت زیستی، استفاده از سیاست‌های منسجم کلان مدیریتی در سطح ملی خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: آزمون الایزا، استراتژی‌های کنترل، بیماری BVD، تکنیک RT-PCR، هلشتاین.

Investigating on the fitness of the strategies to control the BVD infection in Holstein race

Muna Kholghi[1], Mohammad Moradi Shahrbabak[2*], Mostafa Sadeghi[3], Seyed Reza Miraei Ashtiani[2], Mohammad Mahdi Ranjbar[4] and Mohsen Lotfi[5]
1. Ph. D. Candidate, Department of Animal Science, University of Tehran Aras International Campus, Jolfa, Iran
2, 3. Professor and Associate Professor, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
4, 5. Assistant Professor and Associate Professor, Quality Control Department, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
(Received: Dec. 14, 2019 - Accepted: Aug. 11, 2020)

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate prevalence of BVD and the strategies which were applied for prevention of BVD over the past 50 years in some provinces of Iran. Blood samples of 500 Iranian Holstein race were randomly collected from three dairy farms located in Tehran, Isfahan and Qazvin provinces. BVD control protocols of these farms were recorded. ELISA technique was used to measure the antibody and antigen titers for BVD. RT-PCR technique was performed to investigate the presence and the type of virus in all samples. The prevalence of Ab-/ Ag-, Ab+/ Ag-, Ab-/ Ag+ and Ab-/ Ag+ were 10.2%, 78.8%, 7.2% and 3.8%, respectively. Furthermore, approximately 4.2% of the animals were PI and the prevalence of antibody and antigen titers had not significant difference in three provinces. All positive samples were BVDV type 1. Type 2 was not observed in this study. The results of the study indicated that the efficiency of the used protocols to control BVD diseases is not successful. So, to control the BVD, applying large management policies at the national level is fundamental beside the biosecurity strategies.

Keywords: Bovine viral diarrhea, control strategies, ELISA test, Holstein, RT-PCR.

* Corresponding author E-mail: moradim@ut.ac.ir

مقدمه

بیماری BVD[1] یکی از مهمترین بیماری‌های موجود در صنعت گاو شیری در جهان می‌باشد. عامل این بیماری (BVDV)[2] از خانواده *فلاوی ویریده* (جنس *پستی ویروس*) است. این ویروس در بسیاری از کشورهای جهان به‌صورت بومی درآمده است (Scharnböck *et al*., 2018; Szabára *et al*., 2016). بیماری BVD برای اولین بار در ایران در سال ۱۳۴۸ در اصفهان، کرمان و مناطقی از خراسان گزارش گردید و در سال ۱۳۵۲ عامل بیماری از دو واحد دامداری واقع در کرج، از گاوهای خریداری شده از انگلستان کشف شد (Sedighi Nejad, 1996).

برطبق گزارش‌ها مطالعات بسیاری جهت تعیین میزان خسارت‌های این بیماری انجام‌شده، به‌طور مثال در سال ۱۹۹۵ شیوع این عفونت به همراه آسیب‌های متنوع متعاقب BVD منجر به ضررهای اقتصادی بسیار عظیمی در انگلیس و دانمارک (بالغ بر ۷ تا ۲۷ میلیون پوند) گردید (Houe, 1995). در پژوهش Weersink *et al*. (2002) در کانادا برآورد کل خسارات ناشی از این بیماری در سطح کانادا ۱٫۲۶۴٫۳۵۵ دلار برآورد شد. تاکنون پژوهش‌های بسیار محدودی روی میزان دقیق خسارت‌های این بیماری انجام شده است، زیرا این بیماری آثار بسیار گسترده مستقیم و غیرمستقیم بر صنعت گاوداری می‌گذارد. با در نظرگرفتن متوسط هزینه دامپزشکی هر گاو ۴۶/۵۰ پوند، تخمین زده می‌شود که بیماری BVD در هر گاو این هزینه و خسارات را تا ۲۵۲ پوند افزایش می‌دهد (Yarnall & Thrusfield, 2017). آثار مستقیم و غیرمستقیم این بیماری منجر به خسارت سالانه بالغ بر ۱۶۲ میلیون پوند در انگلیس می‌شود. اگرچه عنوان شده با سرکوب سیستم ایمنی بدن و ایجاد اثر ثانویه، هزینه BVD به مراتب بسیار بالاتر از حد تخمین زده شده خواهد بود (Stott *et al*., 2010). برآورد ضررهای سالانه در نیوزلند نیز حدود ۱۲۷ میلیون دلار اعلام شده که برای هر گله آلوده با اندازه متوسط ۷۰٫۰۰۰ دلار در سال (۱۱۰ تا ۱۸۰ دلار به‌ازای هر گاو) بوده است.

همچنین این تخمین‌های ذکرشده هزینه‌ها، بدون احتساب انتشار گازهای گلخانه‌ای در اثر این بیماری است. چراکه BVD انتشار گازهای گلخانه‌ای را به میزان ۱۱۳ درصد افزایش می‌دهد همچنین بر اساس گزارش واحد R&D شرکت Aquilon در سال ۲۰۱۹، تأثیر اقتصادی این بیماری در اروپا با ظرفیت ۹۰ میلیون حیوان، (با احتساب خسارتی معادل ۱۰۰ تا ۴۰۰ یورو به‌ازای هر حیوان) بالغ بر یک میلیارد یورو در سال است. عمده خسارت مستقیم بیماری شامل کاهش چشم‌گیر تولید شیر، کاهش باروری و مشکلات فراوان تولیدمثلی مانند سقط جنین، مرده‌زایی، کاهش وزن و کاهش رشد می‌باشد. ضررهای اقتصادی ناشی از سقط به عوامل متعددی از جمله قیمت جایگزینی حیوان مربوطه، قیمت علوفه، شیر و نیز مرحله‌ایی از آبستنی که سقط در آن رخ داده است، بستگی دارد (Burgstaller *et al*., 2016; Pinior & Firth, 2017; Pinior *et al*., 2017; Richter *et al*., 2017). بنابراین کشورهای مختلف جهت رسیدن به بهترین استراتژی کنترل، ناچار به حمایت‌های مالی عظیم از پروژه‌های تحقیقاتی هستند (Lanyon & Reichel, 2014; Stott *et al*., 2012). به‌دلیل اهمیت موضوع، مطالعات گستردگی فراوانی دارند، که از بررسی شیوع این بیماری از طریق روش‌های نوینی مانند متاآنالیز در سراسر جهان (Scharnböck *et al*., 2018) گرفته تا تلاش جهت دست‌یابی به واکسن‌های نسل جدید تقسیم می‌شوند (Wang *et al*., 2019).

امروزه کشورهایی که تأثیر اقتصادی BVD را ارزیابی کرده‌اند نسبت به سال‌های قبل حدود ۱۰ برابر بیشتر شده‌اند، که این امر احتمالاً منجر به توسعه برنامه‌های ریشه‌کنی خواهد شد. کشورهای اروپایی مانند بلژیک، آلمان، ایرلند و اسکاتلند از جمله مواردی هستند که برنامه‌های کنترل را به‌کار گرفته‌اند (Pinior & Firth, 2017). بیشترین سطح شیوع عفونت مولد (PI)[3] مربوط به کشورهایی بوده‌است که موفق به اجرای کنترل بیماری یا برنامه‌های ریشه‌کنی از جمله واکسیناسیون نشده‌اند. تجزیه و تحلیل آنها بر ضرورت مطالعات بیشتر

1. Bovine Viral Diarrhea
2. Bovine Viral Diarrhea virus
3. Persistently infected

جهت دستیابی به استاندارد اپیدمیولوژیک به‌منظور به‌کارگیری آنها در استراتژی‌های کلان مدیریتی تأکید می‌کند. لذا کشورهایی که مقررات تجاری بر پایه این بیماری را وضع می‌کنند باید آمادگی ارائه برنامه‌های ریشه‌کنی ملی را به‌طور جدی دارا باشند. استراتژی‌های کنترل سیستماتیک مؤثر روی آن در طول ۲۵ سال گذشته پدید آمده‌است. قسمت مشترک همه برنامه‌های موفقیت‌آمیز کنترل سیستماتیک، حذف حیوانات PI، کنترل حرکت گله‌های آلوده، اعمال مسائل امنیت زیست‌محیطی[1] و نظارت بسیار شدید بر اجرای برنامه‌ها بوده است. کشورهای اسکاندیناوی، اتریش و سوئیس با موفقیت این برنامه‌های کنترل را بدون استفاده از واکسیناسیون اجرا کردند. اگرچه واکسیناسیون به‌عنوان یک ابزار کنترل اختیاری توسط برخی کشورها مانند آلمان، بلژیک، ایرلند و اسکاتلند استفاده شده‌است (Moennig & Becher, 2018). با توجه به اهمیت بسیار بالای این بیماری در صنعت گاوداری ایران و خسارت‌های اقتصادی ناشی از آن، این پژوهش به‌منظور بررسی شیوع BVD و نحوه عملکرد اقدامات صورت گرفته در جهت کنترل این بیماری طی ۵۰ سال اخیر در سه گله صنعتی از استان‌های تهران، اصفهان و قزوین انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

برای انجام این تحقیق در فصل تابستان سال ۱۳۹۶ و در سه گله از تهران، اصفهان و قزوین، نمونه خون توسط ونوجکت EDTAدار از سیاهرگ دمی تعداد ۵۰۰ رأس گاو هلشتاین به ظاهر سالم و بدون سابقه واکسیناسیون، به‌صورت تصادفی، گرفته شد. نمونه خون‌ها با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم‌ها به‌منظور پرهیز از ذوب و انجماد مکرر در حجم‌های ۱/۵ میلی‌لیتری در میکروتیوپ ریخته شده و تا زمان آزمایش‌های سرولوژیکی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آزمون‌های الایزا آنتی‌بادی و الایزا آنتی‌ژن

برای جستجوی آنتی‌بادی و آنتی‌ژن سرمی ویژه BVD با استفاده از دستورالعمل کیت‌های BVD-antibody و BVD-antigen ساخت شرکت IDEX نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. در پایان آزمایش الایزا برای تعیین عیار آنتی‌بادی و آنتی‌ژن، میزان جذب نوری توسط دستگاه خوانشگر الایزا در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید.

تعیین تیپ ویروس BVD

استخراج RNA با استفاده از کیت YTA viral RNA Kit (Cat No:YT9067) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. نمونه‌های RNA با دستگاه نانودراپ (۲۰۰۰ کمپانی Fisher Thermo آمریکا) غلظت سنجی شدند. واکنش‌های ساخت cDNA و PCR در قالب یک واکنش، مطابق با شرایط مندرج در جدول ۱ و با استفاده از کیت QIAGEN One Step و با یک جفت آغازگر اختصاصی در حجم ۶۰ میکرولیتر، براساس جدول ۲ انجام شد. توالی این پرایمرها جهت Detection ویروس BVD به‌صورت زیر است (Kosinova *et al*., 2007):

F: 5'-GCCATGCCCTTAGTAGGACTAGC-3'

R: 5'-CAACT CCATG TGCCA TGTAC AGC-3'

سپس محصولات PCR به‌همراه نمونه شاهد مثبت، روی ژل آگارز ۱/۵درصد به تانک الکتروفورز منتقل شده و در معرض جریان برق ۱۱۰ولت به‌مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند که در انتها نمایان‌سازی با استفاده از اشعه فرابنفش دستگاه ژل داک (BIO RAD، کشور آمریکا) انجام شد. سپس به‌منظور بررسی سویه‌های ویروس از پرایمرهای اختصاصی Typing به شرح زیر استفاده شد (Letellier *et al*., 1999):

B1: 5' GGT AGC AAC AGT GGT GAG 3'

B2: 5' GTA GCA ATA CAG TGG GCC 3'

B3: 5' ACT AGC GGT AGC AGT GAG 3'

B4: 5' CTA GCG GAA TAG CAG GTC 3'

1. Biosecurity

بررسی پروتکل‌های کنترل BVD

با توجه به بررسی‌های صورت‌گرفته در تاریخچه و برنامه‌های سلامت گله‌های موردمطالعه، پروتکل کنترل بیماری BVD به انجام آزمایش‌های ear notch گوساله‌های تازه متولدشده و تست خون گوساله‌های شش ماه به بالا جهت شناسایی و حذف حیوانات PI خلاصه می‌شد و واکسیناسیون علیه BVD، در دستور کار هیچ یک از واحدهای مورد نظر قرار نداشت.

جدول ۱. برنامه‌های شماره ۱ و ۲ دستگاه ترموسایکلر به‌منظور تعیین تیپ ویروس BVD

Table 1. Programs number 1 and 2 of thermal cycler machine for BVD typing

Program number 1		Program number 2	
30 min	50 ºC	30 min	50 ºC
15 min	95 ºC	15 min	95 ºC
5 min	95 ºC	30 min	94 ºC
40 min	50 ºC	40 min	51 ºC
1 min	72 ºC	1 min	72 ºC
7 min	72 ºC	7 min	72 ºC
35 cycles		35 cycles	

جدول ۲. واکنش‌گرهای Master Mix

Table 2. Master Mix reactioners

Master Mix/ µl	
DDV	30
Buffer 5X	15
Primer forward	4.5
Primer Revers	4.5
dNTP	3
Enzyme	3

نتایج و بحث

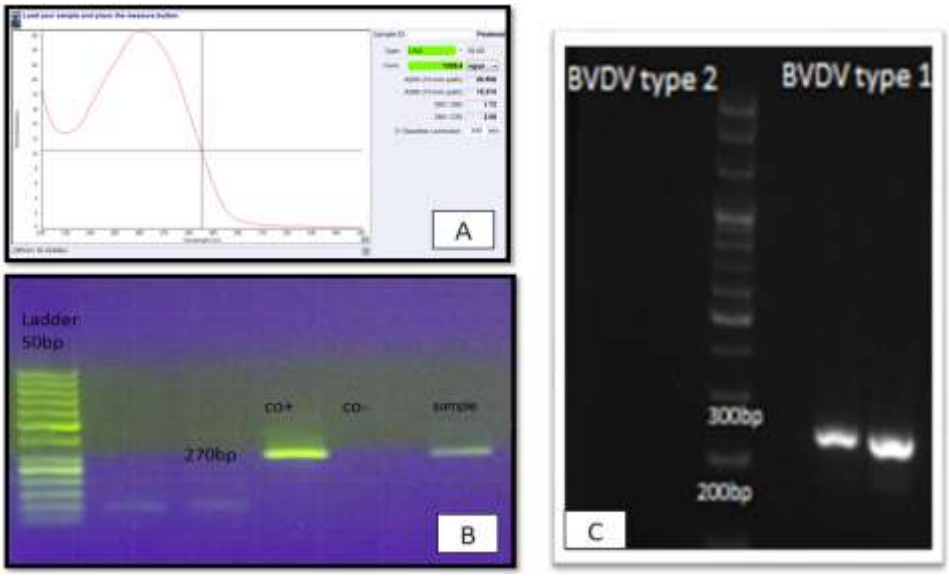
نتایج این تحقیق نشان داد میزان الایزا Ab-/Ag-، Ab+/Ag-، Ab-/Ag+ و Ab+/Ag+ به‌ترتیب ۱۰/۲، ۷۸/۸، ۷/۲ و ۳/۸ درصد بوده‌است (جدول ۳). وجود آلودگی آنتی‌بادی و آنتی‌ژن در مجموع سه گله به‌ترتیب حدود ۸۰ و ۱۱ درصد گزارش شد که از این میان حدود ۲/۸ درصد حیوانات PI بودند و تفاوت معنی‌داری بین گله‌ها در استان‌های ذکرشده مشاهده نشد. حیوانات PI به‌طور دائم به انتشار ویروس می‌پردازند و آنتی‌بادی تولید نمی‌کنند. حیوانات با آلودگی موقت (TI)[1] فقط در یک دوره ۱۴ روزه به انتشار عفونت می‌پردازند، از طرفی هر دو گروه ویرمیک[2] هستند. لذا لازم است دو تست حضور آنتی‌ژن در یک فاصله زمانی حداقل سه هفته به‌منظور تشخیص PI از TI انجام گیرد. گروه Ab-/Ag-، از حیوانات هیچ شواهدی از عفونت قبلی را نشان نمی‌دهند، لذا ممکن است حیوان در مراحل اولیه عفونت بوده و هنوز آنتی‌بادی تولید نکرده باشد. گروه Ab+/Ag-، در سه موقعیت قابل رؤیت است، گوساله‌های جوانی که ممکن است از کلستردیوم گرفته شده باشند و معمولاً پس از شش تا نه ماه آلودگی از بین می‌رود. حیوان در گذشته آلوده شده باشند و یا حیوان واکسینه شده باشد. همچنین قابل ذکر است حیواناتی که در این موقعیت هستند اگر آبستن باشند خطر ابتلا و تولد گوساله PI وجود دارد. گروه Ab-/Ag+ نیز به‌صورت دائم یا موقت به ویروس آلوده هستند، که برای تأیید به‌عنوان PI حداقل ۲۱ روز بعد مجدد بایستی تست شوند. همچنین، گروه Ab+/Ag+، حیوانات آلوده TI بوده که اخیراً آلوده شده‌اند و در شروع مراحل پاسخ ایمنی می‌باشند. لذا نمونه‌ها بایستی ۲۱ روز بعد مجدد آزمایش شوند. قابل ذکر است که بیشتر حیوانات آنتی‌بادی مثبت برای ردیابی آنتی‌ژن تست نمی‌شوند، زیرا حیوانات PI آنتی‌بادی منفی هستند و یا سطح آنتی‌بادی خیلی کمی دارند، ولی گوساله‌های جوان برای ردیابی ویروس بایستی قبل از یک ماهگی حتماً تست شوند. در این پژوهش برای بررسی دقیق نمونه‌ها و دستیابی به درصد هر یک از گروه‌های ذکرشده هر دو تست انجام شد. به‌صورت کلی بررسی حضور ویروس و آنتی‌بادی مرتبط با استراتژی‌های اصلی کنترل هر مجموعه است که متناسب با نیاز سیستم بایستی به دقت انتخاب شود. همچنین، تست مولکولی PCR جهت تأیید بیماری و تعیین سویه ویروس برای نمونه‌های سروتیپ مثبت انجام شد که نتیجه ژل الکتروفورز، حضور ویروس با باندهای 270bp را تأیید نمود. همان‌طورکه در نتیجه تعیین تیپ BVDVI و BVDVII در شکل ۱ مشخص شده‌است، همه باندهای مشهود 300bp بودند که حضور BVDVI را تأیید نموده ولی تیپ BVDVII در این پژوهش گزارش نگردید (شکل ۱).

درصد قابل توجه تیتر آنتی‌بادی در گله‌های مورد

1. Transiently Infected
2. Viromic

پژوهش دلالت بر عفونت فعال ویروس اسهال ویروسی گاو در استان‌های مورد مطالعه در کشور دارد. همچنین، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد، پروتکل‌های کنترل بیماری BVD شامل انجام آزمایش‌های ear notch گوساله‌های تازه متولد شده و تست خون گوساله‌های ۶ ماه به بالا، جهت شناسایی و حذف حیوانات PI موفقیت آمیز نبوده است. اگرچه شناسایی حیوانات PI به‌عنوان بخش مشترکی در همه استراتژی‌های کنترل و ریشه‌کنی در جهان امری بدیهی است، اما تصمیم‌گیری جدی و نظارت دقیق بر اجرای آزمایش‌ها ضروری است. این هدف با تدوین استراتژی‌های مدون و پیوسته در واحدهای بزرگ صنعتی موردمطالعه مطلوب است.

همچنین، با بررسی پرونده پزشکی نمونه‌های سرولوژیکی مثبت، اکثر دام‌ها با اسهال، پنومونی[1] و تعداد کمتری با ورم پستان[2] نیز درگیر بودند. در این راستا آلودگی کل گاوهای ایران در سال ۱۳۴۸ به بیماری BVD حدود ۱۶ تا ۶۹ درصد و طی سال‌های ۱۳۷۰ تا ۱۳۷۳ در گاوهای زیر دو سال ۳۹/۶ درصد و در گاوهای بالای دو سال ۶۲ درصد گزارش گردید (Sedighi Nejad, 1996). در پژوهش‌های مختلفی طی سال‌های ۱۳۷۵ و ۱۳۸۱ با استفاده از روش سرولوژیکی، آلودگی گاوهای شیری ایران به BVD به‌ترتیب به میزان ۶۲ درصد و ۵۶/۷۷ درصد نشان داده شد. همچنین، یک تحقیق نشان داد در سال ۱۳۹۰ حدود ۷۴/۱۷ درصد از سقط‌های گاوداری‌های صنعتی مشهد به‌علت این بیماری بوده است (Bahonar *et al*., 2011). خلاصه‌ای از میزان شیوع آلودگی‌ها طی سال‌های ۱۳۴۸ تا ۱۳۹۶ در ایران در شکل ۲ قابل ملاحظه است. همان طور که مشاهده می‌شود گزارش‌های بسیار پراکنده‌ای در خصوص شیوع این بیماری در کشور وجود دارد و متأسفانه طی چند سال گذشته شیوع BVD هیچ روند کاهشی را دنبال نکرده‌است.



شکل ۱. نتایج نانودراپ (A)، تشخیص (B) و تعیین تیپ (C) ویروس BVD روی ژل آگارز

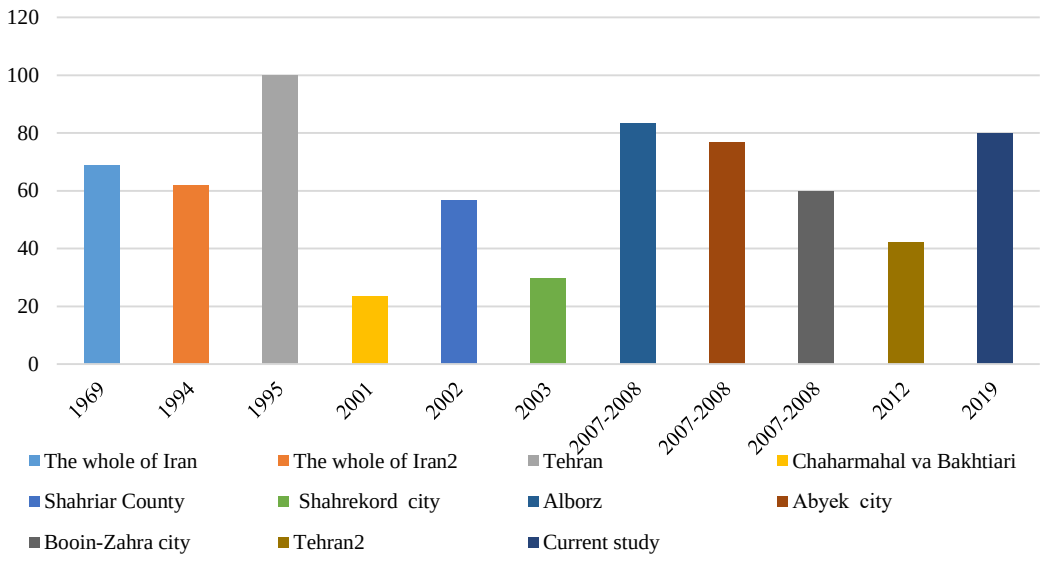
Figure 1. The result of Nanodrop (A), Detection (B) and Typing (C) for BVD virus on agarose gel

جدول ۳. نتایج الایزا برای آزمون‌های آنتی‌بادی و آنتی‌ژن

Table 3. The result of Elisa for antibody and antigen tests

The number of blood samples	Ab+/Ag+		Ab-/Ag+		Ab+/Ag-		Ab-/Ag-	
	Number	Percentage	Number	Percentage	Number	Percentage	Number	Percentage
500	19	3.8	36	7.2	394	78.8	51	10.2

1. Pneumonia
2. Mastitis



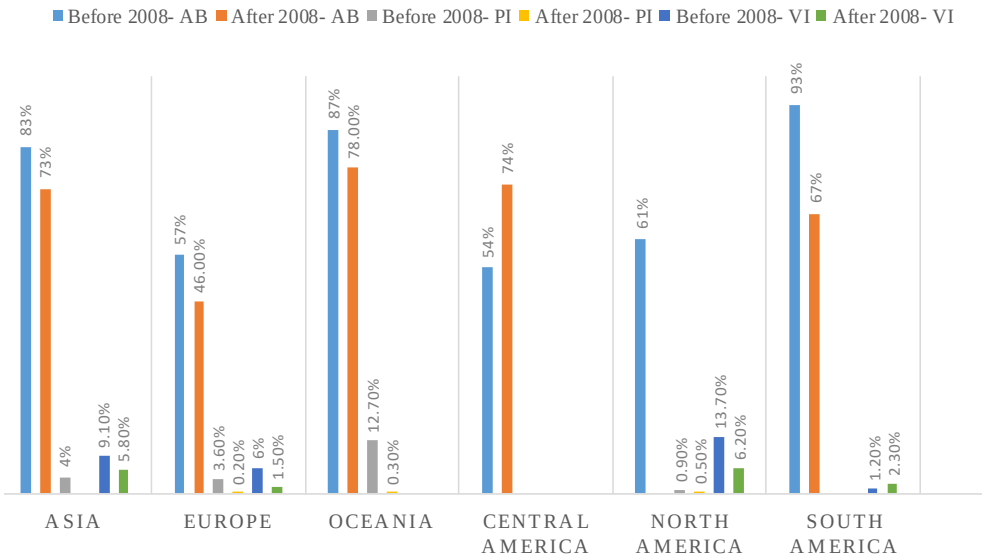
شکل ۲. نمودار شیوع آلودگی BVD در ایران طی سال‌های ۱۳۴۸ تا ۱۳۹۶
Figure 2. The plot of the infection prevalence of BVD in Iran during 1969 to 2018

در تحقیق Scharnböck *et al.* (2018) برای برآورد شیوع اسهال ویروسی در چند سطح PI، VI، آنتی‌بادی مثبت (AB) و شیوع آلودگی در سطح گله در سراسر جهان یک متاآنالیز انجام شد. با استفاده از ۳۲۵ مطالعه در ۷۳ کشور حضور یا عدم حضور عفونت BVD در گاوs طی سال‌های ۱۹۶۱ تا ۲۰۱۶ آنالیز شد. در این پژوهش، ۶/۵ میلیون حیوان و ۳۱۰۵۴۸ گله برای عفونت BVD در جمعیت گاوهای جهانی مورد آزمایش قرار گرفتند. در مطالعه ایشان، شیوع PI در سراسر جهان در کمترین سطح (۰/۸٪ ≤، اروپا، آمریکای شمالی، استرالیا)، متوسط (۰/۸٪ < تا ۱/۶٪ شرق آسیا) و بالا (۱/۶٪ < آسیای غربی) گزارش شد. آنها نشان دادند در طی این مدت شیوع PI و AB در اروپا، آمریکای شمالی و استرالیا در کمترین مقدار و در آسیای غربی بیشترین مقدار بوده است. همچنین، در تحقیقی دیگر که در ۱۰۷ کشور با توجه به عفونت BVD طی سال‌های ۱۹۶۰ تا ۲۰۱۷ انجام شد، یک وضعیت اپیدمیولوژیک ناهمگن برای شیوع BVD و به‌کارگیری برنامه‌های کنترلی گزارش کردند. از نتایج این تجزیه و تحلیل می‌توان برای برنامه‌ریزی روش‌های کنترلی و مؤثر استفاده کرد. در این پژوهش کل کشورهای جهان از نظر برنامه کنترل یا ریشه‌کنی BVD به ۷ دسته شامل ۱- برنامه کنترل/ ریشه‌کن کردن اجباری ملی، ۲- برنامه کنترل / ریشه‌کن کردن اجباری یا داوطلبانه منطقه‌ای، ۳- تغییر برنامه از کنترل/ ریشه‌کن کردن اجباری یا داوطلبانه به برنامه نظارتی، ۴- آزمایش گله بدون اطلاع از برنامه‌های کاهشی بیماری، ۵- آزمایش گله بدون برنامه‌های کاهش، ۶- عدم وجود برنامه کنترل و یا ریشه‌کن کردن و ۷- عدم وجود اطلاعات، تقسیم‌بندی شدند. متأسفانه ایران در دسته پنجم یعنی انجام آزمایش گله بدون هیچ برنامه کنترلی کاهشی قرار گرفت (Richte *et al.*, 2019). به‌منظور دستیابی به بهترین تصمیم‌های استراتژیک جهت پیشگیری BVD، علاوه بر مانیتورینگ دقیق گله و پایش گله تأکید بر پژوهش‌های گسترده به‌منظور شناخت دقیق‌تر نحوه پاسخ و مبارزه سیستم ایمنی با پاتوژن امری ضروری است. زیرا تاکنون حدود ۱۴۰ واکسن علیه BVD در جهان ثبت شده، که گاهی بیشتر آنها از کشت ویروس‌های ضعیف‌شده، غیرفعال و کشته‌شده هستند که به‌صورت مونووالانت یا مولتی‌والانت با برخی پاتوژن‌های دیگر مثل بیماری‌های تنفسی تهیه شده‌اند (Mark *et al.*, 2016). با این حال نگرانی‌های بسیاری از وقوع و تشدید بیماری به واسطه این واکسن‌ها و ایجاد حیواناتی با منبع آلودگی در همه دنیا وجود دارد (Ficken *et al.*, 2006). به‌عنوان مثال، به‌طور کلی واکسیناسیون مادران به‌عنوان یک اقدام حمایتی مطرح است اما ریسک وقوع بیماری برای فرزندان آنها محتمل‌تر

است. واکسیناسیون مادران نشان می‌دهد که سطح آلوآنتی‌بادی[1] در بدن مادران برای چند سال بالا می‌ماند. لذا، با این‌که بسیاری از این مطالعات، پیشرفت‌هایی را نشان می‌دهند، اما واکسن‌های نسل اول محفوظ نبوده و مصرف آنها احتمال آلوده نمودن حیوان را در پی خواهد داشت. لذا، پژوهش‌های بیشتری در حوزه ایمیونومیکس با تمرکز روی برهمکنش‌های میان میزبان و پاتوژن و طراحی واکسن‌های نسل جدید تأکید شده است (Mark *et al.*, 2016). ایمیونومیکس نیز مشابه ژنومیکس[2] و پروتئومیکس[3] از علوم بین رشته‌ایی محسوب شده که از روش‌هایی با حجم بالای اطلاعات و بازده بالا[4] برای درک سیستم ایمنی به‌کار می‌رود (De Groot, 2006; Grainger, 2006). بنابراین، با بررسی دقیق پژوهش‌های اخیر مشخص شده است، برنامه‌های بسیار دقیقی از سوی کشورهای توسعه‌یافته در حال انجام است. در سال ۲۰۰۵، کمیته رهبری ملی BVD در نیوزیلند با هدف ارتقای کنترل BVD در گله‌های گاو از طریق آموزش کشاورزان و دامپزشکی در آن کشور تأسیس شد. تلاش آنها منجر به افزایش چشم‌گیر آزمایش و واکسیناسیون در طی یک دهه گذشته، به‌ویژه در پرورش گاوها شده است. در یک جلسه، ذی‌نفعان صنعت در سال ۲۰۱۵، مشخص کردند که ظرفیت فنی برای دستیابی به ریشه‌کن کردن BVD در نیوزیلند وجود دارد، لذا تلاش آنها جهت طراحی بهترین سیستم‌های کشاورزی در نیوزیلند ادامه دارد. یکی از آخرین اقدام‌های آنها ایجاد چالشی از اول فوریه ۲۰۱۹ تا ۱۵ دسامبر ۲۰۱۹ بوده است، تا دامداران و دامپزشکان نیوزلندی، برای دریافت جایزه نقدی به ارزش ۱۵۰۰۰ دلار در چالش مبارزه با BVD به رقابت بپردازند (https://www.bvdfree.org.nz). موارد بسیار مشابه در سایر کشورها از جمله کمیته BVDZero آلمان نیز وجود دارد، که در سال ۲۰۱۹ جایزه‌ای به ارزش ۱۵۰۰۰ یورو برای فعالان حوزه کنترل و ریشه‌کنی BVD تعیین کرده‌اند (https://www.bvdzero.com/bvdzeroaward.html). با توجه به این واقعیت که عفونت اغلب مخفی بوده و توسط دام‌های PI به‌صورت دائم در گله پراکنده می‌شود، ریشه‌کنی بیماری فقط برای مناطقی با زیرساخت‌های بهداشت دامی ملی که به خوبی سرمایه‌گذاری کرده‌اند عملی می‌باشد. چنین مناطقی باید کنترل مرزی سخت، ظرفیت بارز تشخیصی و سیستم گزارش‌دهی، مراقبت و جمعیت گاوی در دسترس را دارا باشند (Moennig & Becher, 2018).

جدا از سیاست‌گذاری‌های کلان هر منطقه جهت تعیین نوع استراتژی کنترل، ریشه‌کنی یا نظارت با کمک واکسن و یا بدون واکسن قسمت‌هایی از این برنامه‌ها مشترک است. از جمله این‌که حیوانات مورد آزمایش برای BVD به دو بخش تقسیم می‌شوند. در بخش اول همه گوساله‌های خریداری‌شده و تازه متولدشده، تمامی گوساله‌های سقط‌شده و همه تلیسه‌ها قبل از تلقیح طبیعی یا مصنوعی بایستی حتماً تست شوند. در بخش دوم نیز همه گاوهای دارای گوساله PI، تمامی گاوهایی که در دوره روزهای باز هستند و فروخته نمی‌شوند، گاوهایی که در زمان معین آبستن نشده‌اند و همه گاوهایی که سقط جنین داشته یا گوساله آنها بعد از تولد می میرند بایستی از نظر حضور ویروس آزمایش شوند. همچنین، بهتر است از تانک شیر تست‌های منسجم و دوره‌ایی انجام شود. که بدین منظور گاوها باید به گروه‌های ۱۰ تا ۲۰ تایی تقسیم شوند و در صورت آنتی‌ژن مثبت بودن، دوباره آن گروه به‌صورت انفرادی مورد سنجش قرار بگیرد. بنابراین نتایج این تحقیق با توجه به شیوع بالای بیماری نشان می‌دهد، پروتکل‌های کاربردی تا به امروز قابلیت مبارزه جدی با این بیماری را نداشته‌است. لذا با توجه به شیوع بسیار بالای بیماری در گله‌های موردمطالعه و همچنین گزارش Richter *et al.* (2019) مبنی بر نبود یک برنامه جامع و منسجم در ایران به‌عنوان اولین قدم مؤثر جهت مبارزه جدی با این بیماری، تشکیل کمیته نظارتی ملی BVD در کشور است. زیرا با تحقیقات صورت گرفته مهمترین چالش حاضر نبود نظارت دقیق و پیوسته بر لزوم به‌کارگیری پروتکل‌های کار گروه‌های سلامت واحدها است.

1. Alloantibody
2. Genomics
3. Proteomics
4. High throughput



شکل ۳. نمودار میزان شیوع BVD در جهان طی سال های ۱۹۶۰ تا ۲۰۱۷ میلادی

Figure 3. The plot of the prevalence of BVD in world during 1960 to 2017

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی، نتایج این تحقیق نشان داد وجود آلودگی آنتی‌بادی و آنتی‌ژن در مجموع سه گله به‌ترتیب حدود ۸۰ و ۱۱ درصد بوده که از این میان حدود ۲/۸ درصد حیوانات PI بودند و تفاوت معنی‌داری بین استان‌های ذکرشده مشاهده نشد. با استناد به شیوع بسیار بالای بیماری BVD در گله‌های صنعتی مورد بررسی، می‌توان نتیجه گرفت استراتژی‌های به‌کاررفته برای کنترل این بیماری موفقیت‌آمیز نبوده‌اند. لذا، به‌نظر می‌رسد مهم‌ترین اقدام جدی جهت ریشه‌کن نمودن این بیماری علاوه اعمال اصول امنیت زیستی، استفاده از سیاست‌های مدیریتی با نظارت بسیار دقیق و منسجم در سطح منطقه‌ای یا ملی خواهد بود.

سپاسگزاری

از مؤسسه نوین دانشمند که بخشی از بودجه این مطالعه را پرداخت نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Bahonar, A.R., Nekui Jahromi, A.U., Hopefully, M.J., Carpenter, A.S., Shukri, M.R. & Mirzaei, K. (2011). Bovine viral diarrhea in Qazvin-Iran: a seroepidemiological study. *Journal of Veterinary Information*, 66(4), 323-319.
2. Burgstaller, J., Walter, O., Sabrina, K., Ian, K., Beate, P. & Josef, K. (2016).The effect of bovine viral diarrhoea virus on fertility in dairy cows: two case-control studies in the province of Styria, Austria. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 129, 103-110.
3. De Groot, A.S. (2006). Immunomics: discovering new targets for vaccines and therapeutics. *Drug Discovery Today*, 11, 203-209.
4. Ficken, M.D., Ellsworth, M.A., Tucker, C.M. & Cortese V.S. (2006). Effects of modified-live bovine viral diarrhea virus vaccines containing either type 1 or types 1 and 2 BVDV on heifers and their offspring after challenge with noncytopathic type 2 BVDV during gestation. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228, 1559-1564.
5. Grainger, D.J. (2004). Immunomics: principles and practice. *IRTL reviews*, 2, 1-6.
6. Houe, H. (1995). Epidemiology of bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 11, 521-547.
7. Kosinova, E., Psikal, I., Robesova, B. & Kovarcik, K. (2007). Real-time PCR for quantitation of bovine viral diarrhea virus RNA using SYBR green I fluorimetry. *Veterinarni Medicina-Praha*, 52(6), 253-61.
8. Lanyon, S. & Reichel, M. (2014). Bovine viral diarrhoea virus (‘pestivirus’) in Australia: To control or not to control. *Australian Veterinary Journal*, 92, 277-282.

9. Letellier, C., Kerkhofs, P., Wellemans, G. & Vanopdenbosch, E. (1999). Detection and genotyping of bovine diarrhea virus by reverse transcription-polymerase chain amplification of the 50 untranslated regions. *Veterinary Microbiology*, 64, 155-167.
10. Mark, A., Chambers Simon, P., Roberto, M. & Ragione, L. (2016). Challenges in veterinary vaccine development and immunization. *Vaccines for Veterinary Diseases, Methods in Molecular Biology*, 1404, 3-35.
11. Moennig, V. & Becher, P. (2018). Control of Bovine Viral Diarrhea. *Pathogens*, 7, 29.
12. Pinior, B. & Firth, C. L. (2017). The economics of bovine viral diarrhoea eradication. *Letters & Notices*, 181, 300.
13. Pinior, B., Firth, C.L., Richter, V., Lebl, K., Trauffler, M., Dzieciol, M., Hutter, S.E., Burgstaller, J., Obritzhauser, W., Winter, P. & Käsbohrer A. (2017). A systematic review of financial and economic assessments of bovine viral diarrhea virus (BVDV) prevention and Mitigation activities worldwide. *Preventive Veterinary Journal*, 137, 77-92.
14. Richter, V., Lebl, K., Baumgartner, W., Obritzhauser, W., Käsbohrer, A. & Pinior, B. (2017). A systematic worldwide review of the direct monetary losses in cattle due to bovine viral diarrhoea virus infection. *Veterinary Journal*, 220, 80-87.
15. Richter, V., Kattwinkel, E., Firth, C.F., Marschik, T., Dangelmaier, M., Trauffler, M., Obritzhauser, W., Baumgartner, W., Käsbohrer, A. & Pinio, B. (2019). Mapping the global prevalence of bovine viral diarrhoea virus infection and its associated mitigation programmes. *Veterinary Record*, 184, 1-4.
16. Sedighi Nejad, S. (1996). Study of bovine viral diarrhea, mucosal disease in Iran. *Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 30, 27. (in Farsi)
17. Scharnböck, B., Franz-Ferdinand, R., Richter, V., Funke, C., Firth, C.L., Obritzhauser, W., Baumgartner, W., Käsbohrer, A. & Pinior, B. (2018). A meta-analysis of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) prevalences in the global cattle population. *Scientific Reports*, 8, 14420-14434.
18. Stott, A. W., Humphry, R. W. & Gunn, G. J. (2010). Modelling the effects of previous infection and re-infection on the costs of bovine viral diarrhoea outbreaks in beef herds. *The Veterinary Journal*, 185,138-143.
19. Stott, A.W., Humphry, R.W., Gunn, G.J., Higgins, I., Hennessy, T., Flaherty, J. & Graham, D.A. (2012). Predicted costs and benefits of eradicating BVDV from Ireland. *Irish Veterinary Journal*, 65, 12-22.
20. Szabára, Á, Lang, Z., Földi, J., Hornyák, Á., Abonyi, T. & Ózsvári, L. (2016). Prevalence of bovine viral diarrhoea virus in cattle farms in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*, 64, 263-272.
21. Wang, Y., Baohua, F., Chao, N., Shuo, J., Chao, S., Zhuo, W., Yanping, J., Wen, C., Li, W. & Yigang, X. (2019). Dendritic cell targeting of bovine viral diarrhea virus E2 protein expressed by lactobacillus casei effectively induces antigen-specific immune responses via oral vaccination. *Viruses*, 11, 1-19.
22. Weersink, A., VanLeeuwen, Chi, J. & Keefe, G. P. (2002). Direct production losses and treatment costs due to four dairy cattle diseases. *Advances in Dairy Technology*, 14, 55-75.
23. Yarnall, M. J. & Thrusfield, M. V. (2017). Engaging veterinarians and farmers in eradicating bovine viral diarrhoea: a systematic review of economic impact. *Veterinary Record*, 181, 347-354.