جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی سرم‌شناسی میزان شیوع آلودگی گاوها به BVDV با آزمون الایزا و مقایسه استفاده از الایزای شیر و سرم خون در ارومیه

دکتر احمد مرشدی[1]* دکتر علیرضا محمودیان[1] دکتر بهرام دلیرنقده[2] دکتر جواد حاجی زاده[3]

دریافت مقاله: ۲۵ تیر ماه ۱۳۸۲
پذیرش نهایی: ۱۸ آذر ماه ۱۳۸۲

هدف: تعیین میزان شیوع آلودگی گاوها به ویروس BVD و یافتن گله‌های سرم مثبت با الایزای غیرمستقیم با استفاده از نمونه‌های شیر و سرم، و ارزیابی استفاده از نمونه شیر به جای سرم خون.

طرح: مطالعه شیوع سرمی BVDV با استفاده از الایزای شیر و سرم خون به روش ارزیابی گذشته نگر.

حیوانات: صدو هشتادو هشت رأس گاو شیری و ۴۵ رأس گوساله ۶ ماهه تا ۲ ساله از نژاد بومی و دو رگ از ۲۴ گله در حومه ارومیه.

روش: فراهم کردن سرم خون و شیر به منظور جستجوی آنتی‌بادی ضد BVDV در شیر و سرم با آزمون الایزای غیرمستقیم، سرمها به نسبت ۱:۲۵ در بافر رقیق شدند، ولی نمونه‌های شیر پس از سانتریفوژ در ۲۵۰۰ دور و جداسازی چربی آنها، بدون رقیق کردن در الایزا به کار رفتند. آن دسته از نمونه‌های سرم و شیر که OD آنها مساوی یا بزرگتر از ۲/۵ برابر OD مربوط به سرم و شیر کنترل منفی (شاهد منفی) بود به عنوان الایزا- مثبت در نظر گرفته شدند. داده‌های به دست آمده از ۱۸۸ جفت نمونه شیر و سرم به منظور تعیین درصد همخوانی بین آنها مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری: آزمون استودنت تی و مربع کای.

نتایج: از ۱۸۸ جفت نمونه شیر و سرم مربوط به گاوهای ماده شیری، ۵۹ مورد (۳۱/۳۸ درصد) الایزا- مثبت از سرم و ۵۲ مورد (۲۷/۶۵ درصد) الایزا- مثبت از نمونه‌های شیر به دست آمد. همچنین از ۴۵ نمونه سرم گوساله ۰/۵ تا ۲ ساله ۲۰ درصد سرم مثبت در برابر BVDV مشاهده گردید. درصد فراوانی حیوانات سرم مثبت در گروههای سنی بزرگتر از ۲ تا ۵ سال ۲۷/۶۱ درصد و در بزرگتر از ۵ سال ۳۶/۱۴ درصد به دست آمد. در این مطالعه فراوانی گله‌های آلوده ۸۰ درصد برآورد شد. نتایج همچنین نشان داد که بین داده‌های الایزای شیر و سرم ۹۶ درصد همخوانی وجود دارد.

نتیجه گیری: با توجه به یافته‌های آزمون الایزای شیر و سرم خون، میانگین آلودگی به BVDV در سه گروه سنی مختلف ۲۹/۱۸ درصد به دست آمد. با توجه به اینکه ۸۰ درصد از گله‌ها دارای حیوان سرم مثبت بودند، می‌توان به گسترش چشمگیر آلودگی در ارومیه پی برد. هر چند بازده الایزای شیر در کشف حیوانات سرم مثبت ۳/۷۲ درصد کمتر از الایزای سرم بود، لکن اختلاف معنی‌دار آماری با سطح اطمینان ۹۵ درصد بین نتایج به دست آمده از الایزای شیر (۲۷/۶۵درصد) و الایزای سرم (۳۱/۲۸درصد) مشاهده نگردید. از این رو می‌توان از شیر به جای سرم خون برای یافتن گله‌های آلوده و تعیین درصد آلودگی گاوها به BVDV در آزمون الایزا به عنوان یک تست غربالی استفاده نمود. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۳)، دوره ۵۹، شماره ۳، ۲۳۱-۲۲۷.

واژه‌های کلیدی: الایزای شیر، آلودگی به BVDV، گاو.

۱) گروه آموزشی پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - تهران.
۲) گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - تهران.
۳) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - تهران.
*) نویسنده مسؤول ahmad_morshedi@yahoo.com

Serologic survey of cattle infected with BVD virus by indirect ELISA and compare the use of milk- ELISA and serum- ELISA in Urmia

Morshedi, A.,[1] Mahmoodian, A.L.,[1] Dalire Naghade, B.,[2] Hajizade, J.[3]

[1]*Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia - Iran.* [2]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia - Iran.* [3]*Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia - Iran.*

Objective: Detecting of seropositive cattle to BVD virus by indirect ELISA using milk and serum samples from individual cows, comparing the use of milk instead of blood serum for determining the BVDV infection in cattle herds.

Design: Bovine viral diarrhea seroprevalence survey in cattle using milk and serum ELISA by retrospective study.

Animals: One hundred and eighty eight milky cows and 45 calves 0.5-2 years old (Native and hybride) from 24 cattle herds in subord of Urmia.

Procedure: Preparing serum and skim milk for detection of anti-BVDV antibody by indirect ELISA. The sera were diluted 1:25 and the milk samples were used as undiluted. The sera and milk which had OD equal or higher than 2.5 time OD of reference negative control serum and milk, considered as ELISA-positive. The data obtained from 188 matched sets of milk and serum were statistically compared with each other to determine the precentage of correlation between them.

Statistical analysis: Student's t and chi square tests.

Reults: Out of 188 pairs milk and serum, 52 cases (27.65%) of milk and 59 (31.38%) of serum samples were ELISA positive. The data showed 96% correlation between the results of milk-ELISA and serum-ELISA.

Conclusion: The present study showed that milk-ELISA is well performed in compared with serum-ELISA test. However the output of milk-ELISA was 3.72% less than serum-ELISA in detection of animals infected with BVDV, but on significant differences was found between the results gained by milk-ELISA (27.65%) and serum-ELISA (31.38%) test by student's t-test. Therefore, the milk can be used instead of serum in ELISA for detection of infected herds as a screening test. ***J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 59, 3: 227-231, 2004.***

Key words: Milk- ELISA, BVDV seroprevalence, Cattle.

Corresponding author's email:ahmad_morshedi@yahoo.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

اسهال ویروسی گاو (Bovine viral Diarrhea "BVD") با دخالت یک پستی‌ویروس به نام BVDV ایجاد می‌شود. این بیماری گرچه دارای مرگ و میر پایین است، ولی خسارات اقتصادی فراوانی از جمله کاهش تولید شیر و کاهش رشد، سقط جنین و ناهنجاریهای مادرزادی و غیره به گله‌های آلوده وارد می‌سازد (۱۶). علاوه بر این گزارشهایی وجود دارند که آلودگی گوساله‌ها با این ویروس می‌تواند سبب سرکوب ایمنی شود و بیماریهای عفونی دیگر را گسترش دهد. با توجه به اینکه ویروس عامل BVD در سلولهای سیستم ایمنی بویژه لنفوسیت ها تکثیر و سبب تخریب آنها می‌شود، می‌توان نتیجه گرفت که ویروس قادر است سرکوب ایمنی را به دلیل کاهش لنفوئیدی و نوتروپنی باعث گردد (۱۵). براساس بررسیهای سرولوژیک متعددی که در کشورهای پیشرفته صورت گرفته ۸۰-۶۰ درصد گوساله‌های بالای یکسال از نظر آنتی‌بادی های خنثی کننده ویروس، مثبت بوده‌اند. ابتلای طبیعی و حیوانات ویرمیک دفع کننده ویروس، مسؤول ایجاد حیوانات سرم مثبت هستند (۴). از طرفی گاوان با عفونت پایدار (Persistant infection "PI") و بدون علایم که یکی از عوامل مهم آلودگی جنین به ویروس BVD هستند، با دفع مقادیر زیادی ویروس از ترشحات خود به عنوان منشا اصلی ویروس در گله و انتقال عفونت به گوساله عمل می‌کنند (۱۱). در گاوان PI، ایمونوتولرنس نسبت به ویروس BVD غیر سایتوپاتیک ایجاد می‌شود، بنابراین در صورت آلودگی با ویروس سایتوپاتیک می‌توانند پاسخ ایمنی برقرار نمایند، بدین دلیل حیوانات PI می‌توانند در برابر BVDV سرم مثبت نیز باشند (۶،۸). تشخیص سرولوژیکی این نوع دامها به علت وجود مقادیر کم پادتن در سرم، که خود به دلیل ایجاد تحمل ایمنی در برابر ویروس غیر سایتوپاتیک می‌باشد، با آزمونهای سرولوژیک رایج در BVD، نظیر خنثی سازی ویروس، ثبوت کمپلمان و رسوب در ژل امکانپذیر نمی‌باشد. از این رو استفاده از آزمونهای غربالی سرولوژی با حساسیت بالا به منظور پی‌بردن به گله‌های آلوده و تعیین درصد دامهای سرم مثبت و منفی جهت کنترل و پیشگیری از این بیماری دارای اهمیت است. آزمون الایزای غیرمستقیم به طور وسیعی جهت تعیین موارد مثبت سرمی و اندازه‌گیری آنتی‌بادی ضد BVDV در سرم به منظور تعیین میزان آلودگی به ویروس BVD به کار رفته است (۴،۷،۹،۱۰). همچنین جستجوی آنتی‌بادی ضد BVDV در شیر گاوان با آزمون الایزا (Milk- ELISA) چه به صورت شیر انفرادی و چه به صورت شیر فله (Bulk tank milk) مورد استفاده قرار گرفته است (۵،۱۲،۱۴). هدف از مطالعه حاضر، بررسی میزان آلودگی به BVDV با استفاده از نمونه سرم و شیر انفرادی گاوها از گله‌های متعدد با آزمون آلایزای غیرمستقیم و مقایسه نتایج حاصل از الایزای شیر و سرم و ارزیابی الایزای شیر بوده است.

مواد و روش کار

در این مطالعه نمونه‌برداری از گاو و گوساله در طول فصول تابستان، پاییز و زمستان سال ۱۳۸۰ انجام گرفت. خونگیری از گاوان بالای ۲ سال و نیز از گوساله‌های ۰/۵ تا ۲ ساله بومی و دورگ به روش تصادفی از ۲۴ گله در حومه ارومیه انجام شد، سرم آنها جدا و تا هنگام آزمایش در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری می‌گردید.

نمونه شیر از هر گاو از یک کارتیه به میزان ۸-۷ میلی‌لیتر گرفته و پس از سانتریفوژ در ۲۵۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه و حذف چربی آنها در ۲۰- درجه سانتیگراد گذاشته می شد. پرسش نامه برای هر نمونه شامل: تاریخ، نام روستا و صاحب دام، سن حیوان، تعداد زایش، سابقه نواقص مادرزادی، سقط و ناباروری در گله، در هنگام نمونه برداری ثبت می‌شد. برای اندازه‌گیری پادتن ضد BVDV در سرم و شیر از کیت الایزای غیرمستقیم به نام Svanovir BVDV Kit ساخت Svanova Biotech، Sweden استفاده شد.

روش کار

۱۰۰ میکرولیتر از نمونه شیر و ۱۰۰ میکرولیتر نمونه سرم به رقت ۱:۲۵ به صورت Duplicate در دو حفره مجاور هم که یکی حاوی آنتی‌ژن BVDV و دیگری حاوی آنتی‌ژن کنترل (فاقد BVDV) بود، ریخته شد چهار حفره از آخرین ردیف پلیت جهت سرم منفی و مثبت رفرنس و چهار حفره نیز به شیر منفی و مثبت رفرنس اختصاص یافت. پس از یکساعت نگهداری در ۳۷ درجه و ۳ بار شستشو ۱۰۰ میکرولیتر از کنژوگه پراکسیداز به هر حفره ریخته و پس از یکساعت نگهداری در ۳۷ درجه و ۳ بار شستشو به هر حفره ۱۰۰ میکرولیتر محلول سوبسترا ریخته و حدود ۱۵ دقیقه در حرارت اتاق گذاشته شد. پس از مشاهده تغییر رنگ بلافاصله ۵۰ میکرولیتر ماده متوقف کننده به هر حفره اضافه و OD آنها (Optical Density) در ۴۵۰ نانومتر خوانده و ثبت گردید. ارزش ΔOD نمونه‌ها و رفرنس‌ها با کسر OD حفره کنترل آنتی‌ژن از OD حفره حاوی آنتی‌ژن محاسبه گردید. در این تحقیق نمونه‌های شیر و سرم که ارزش ΔOD آنها مساوی یا بزرگتر از ۲/۵ برابر ΔOD سرم منفی رفرنس بود، مثبت در نظر گرفته شدند (۷).

نتایج

از ۱۸۸ نمونه سرم، ۵۹ مورد (۳۱/۳۸ درصد) و از نمونه شیر، ۵۲ مورد (۲۷/۶۵ درصد) الایزا مثبت به دست آمد. لکن تمام جفت نمونه‌های سرم - الایزا منفی در آزمون شیر-الایزا هم منفی شدند. با توجه به نتایج به دست آمده الایزای سرم توانست فقط ۳/۷۲ درصد بیش از الایزای شیر موارد پادتن مثبت را در گله پیدا نماید. از سوی دیگر از ۴۵ نمونه سرم گوساله ۹ مورد (۲۰ درصد) الایزا مثبت به دست آمد. تجزیه و تحلیل داده‌ها در سه گروه سنی ۶ ماهه تا ۲ سال، ۲ تا ۵ سال و بالای ۵ سال درصد فراوانی حیوانات سرم مثبت را به ترتیب ۲۰درصد، ۲۷/۶۱ درصد و ۳۶/۱۴ درصد (جدول ۲)، و به تفکیک فصل، در تابستان ۲۸/۱۵ درصد، در پاییز ۳۰ درصد و در زمستان نیز ۳۰ درصد (جدول۳) نشان داد. همچنین درصد فراوانی آلودگی به BVDV در گله‌هایی که سابقه سقط جنین، نواقص مادرزادی و یا ناباروری داشتند ۳۲/۳۲ درصد و در گله‌هایی که نداشتند ۲۵ درصد (جدول ۴) به دست آمد.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

جدول ۱- میزان فراوانی جفت نمونه‌های شیر و سرم الایزا مثبت بر حسب میزان آنتی‌بادی (OD) آنها در ۵۹ نمونه سرم مثبت

تعداد نمونه (درصد فراوانی)	میانگین ΔOD سرم - الایزا	میانگین ΔOD شیر - الایزا	نتایج سرم- الایزا	نتایج شیر- الایزا
۱۲ (۲۰/۳۳)	۱/۴۵۰	۰/۹۱۵	+	+
۸ (۱۳/۳۵)	۱/۱۲۵	۰/۸۲۵	+	+
۱۵ (۲۵/۴۲)	۰/۹۲۵	۰/۶۷۵	+	+
۵ (۸/۴۷)	۰/۸۴۰	۰/۶۱۵	+	+
۱۲ (۲۰/۳۳)	۰/۶۱۵	۰/۵۱۲	+	+
۷ (۱۱/۸۶)	۰/۴۹۵	۰/۳۴۰	+	+

در این تحقیق ΔOD شیر رفرنس منفی ۰/۱۵۰ و ΔOD سرم منفی رفرنس ۰/۱۷۰ به دست آمد. بر این اساس نمونه‌های شیر که ΔOD آنها مساوی یا بزرگتر از ۰/۳۷۵ و نمونه‌های سرم که ΔOD آنها مساوی یا بزرگتر از ۰/۴۲۵ بود، مثبت به حساب آمدند. مقایسه داده‌های به دست آمده از الایزای شیر با الایزای سرم، ۹۶ درصد همخوانی بین نتایج را نشان داد. همچنین بررسی نتایج داده‌ها در مورد ۵۲ جفت نمونه سرم و شیر که هم در سرم الایزا و هم در شیر الایزا مثبت بودند، نشان داد که عیار پادتن در نمونه‌های شیر پایینتر از سرم هم‌ارز خود بود. به طوری که ODهای به دست آمده از سرمهای الایزا مثبت بین ۰/۴۳۰ تا ۱/۵۵۰ و ODهای به دست آمده از نمونه‌های شیر الایزا مثبت بین ۰/۳۷۵ تا ۰/۹۲۵ متغیر بودند. فراوانترین تیتر پادتن ضدBVDV با ΔOD برابر ۰/۹۲۵ بود که ۱۵ نمونه دارای این عیار بودند (جدول ۱). همچنین میزان گله‌های آلوده به BVDV، ۸۰ درصد تخمین زده شد.

بحث

بررسی آلودگی با ویروس BVD در گاوها به علت پنهان بودن چهره بالینی بیماری و ظاهر شدن آن به صورت تحت بالینی بیشتر متکی به روشهای سرم‌شناسی نظیر آزمون خنثی‌سازی ویروس، روش ایمونوفلورسنس، روش ایمونوپراکسیداز و بالاخره الایزای غیرمستقیم برای جستجوی پادتن در شیر و سرم، و نیز الایزای جذبی (Capture ELISA) جهت جستجوی آنتی‌ژن ویروس در بافی‌کوت بویژه برای یافتن حیوانات PI می‌باشد.

وجود این بیماری در اکثر استانهای کشور در سالهای اخیر توسط محققین با روشهای سرم‌شناسی و جدا کردن ویروس از غدد لنفاوی گزارش شده است. در بررسی صدیقی‌نژاد در سال ۱۳۷۵ بالاترین میزان آلودگی در استان چهارمحال و بختیاری (با حدود ۹۰درصد آلودگی) و پایینترین آن در بوشهر با ۲۲ درصد سرم مثبت به روش الایزا گزارش شده است. در همین بررسی میزان آلودگی گاوها در استان آذربایجان غربی را حدود ۶۸ درصد اعلام کردند (۱). در تحقیق دیگری که توسط همت‌زاده و همکاران در سال ۱۳۷۸ در چهارمحال و بختیاری با آزمون Virus neutralization test (VNT) انجام شد، متوسط آلودگی را حدود ۲۳ درصد به دست آوردند. آنها همچنین در تحقیق خود نشان دادند که ارتباط معنی‌داری بین افزایش سن و افزایش میزان آلودگی وجود دارد، لکن اختلاف معنی‌داری بین سابقه واکسن زدن علیه بیماریهای معمول و شیوع آلودگی به BVDV نیافتند (۳).

جدول ۲- درصد فراوانی آلودگی گاوها به ویروس BVD به تفکیک گروه سنی در ارومیه.

گروه سنی به سال	تعداد نمونه	تعداد الایزا مثبت	درصد فراوانی سرم مثبت
۰/۵-۲	۴۵	۹	۲۰
۲-۵ <	۱۰۵	۲۹	۲۷/۶۱
۵<	۸۳	۳۰	۳۶/۱۴
جمع کل	۲۳۳	۶۸	۲۹/۱۸ میانگین

کارگر مؤخر و همکاران در سال ۱۳۴۷ در یک بررسی در اطراف تهران میزان آلودگی به BVDV را در گاوهای کشتارگاه، به روش VNT حدود ۵۸ درصد و در گله‌های صنعتی که درگیر با بیماری در یک همه‌گیری بودند وجود پادتن را در ۱۰۰ درصدحیوانات یافتند (۲).

در مطالعه حاضر با استفاده از الایزای غیرمستقیم جمعاً ۲۳۳ نمونه سرم گاو و گوساله و ۱۸۸ نمونه شیر جهت پی بردن به میزان آلودگی به BVDV مورد آزمایش قرار گرفت و میانگین شیوع سرمی ۲۹/۱۸ درصد در ارومیه به دست آمد (جدول ۲). با توجه به اینکه حدود ۸۰ درصد از گله‌ها آلودگی را نشان دادند می‌توان به گسترش چشمگیر آلودگی پی برد. همان طور که در جدول ۲ نشان داده شده، فراوانترین درصد آلودگی (۳۶/۱۴ درصد) در گروه سنی بزرگتر از ۵ سال و کمترین میزان آلودگی (۲۰ درصد) مربوط به گروه سنی ۶ ماهه تا ۲ سال می‌باشد. تجزیه و تحلیل آماری به روش مربع کای ارتباط معنی‌داری بین بالا رفتن سن و افزایش میزان آلودگی در گله نشان داد. در این مطالعه گوساله‌های بالاتر از شش ماه مورد آزمایش سرمی قرار گرفتند تا اینکه پادتن‌های مادری منتقله از آغوز از بین بروند. از این رو درصد کمی از آلودگی که مربوط به جمعیت گوساله‌های زیر شش ماه بود ناچاراً در مطالعه منظور نشده است. همچنین نظر به اینکه در این تحقیق فقط از گاوان ماده نمونه‌برداری انجام شد (جهت مقایسه شیر و سرم) درصدی از آلودگی که مربوط به جمعیت گاوهای نر بود نیز خودبه خود حذف گردید. بنابراین فراوانی شیوع سرمی به دست آمده در این مطالعه مربوط به جمعیت گاوهای شیری و گوساله‌های نر و ماده بالای شش ماه می‌باشد.

ویروس BVD به عنوان یکی از عوامل ایجادکننده نواقص مادرزادی و سقط جنین و ناباروری نیز به حساب آمده (۶). در این بررسی طرح یافتن یک رابطه علیتی بین سابقه سقط جنین و یا ناباروری در گله و فراوانی آلودگی به BVDV ریخته شد و همان طور که نتایج آن در جدول ۴ نشان می‌دهد، درصد فراوانی آلودگی در گله‌هایی که سابقه سقط جنین و یا ناباروری داشتند به طور چشمگیری بیش از گله‌هایی که فاقد سابقه موارد فوق بودند (۳۲/۳۲ درصد در برابر ۲۵درصد) مشاهده گردید.

در تجزیه و تحلیل آماری با به کار بردن آزمون استودنت تی با سطح اطمینان ۹۵درصد، اختلاف معنی دار بین سابقه سقط یا ناباروری و فراوانی آلودگی در گله وجود داشت. اگر چه در برخی متون دامپزشکی به افزایش محسوس این بیماری در فصل زمستان اشاره شده است (۴)، لکن در مطالعه حاضر همان طور که نتایج در جدول ۲ آمده، با استفاده از آزمون مربع کای، بین درصد آلودگی و فصل اختلاف چشمگیر آماری مشاهد ه نگردید.

جدول ۳- درصد فراوانی آلودگی به BVDV به تفکیک فصل در ارومیه.

فصل	تعداد نمونه	تعداد الایزا مثبت	درصد فراوانی سرم مثبت
تابستان	۱۰۳	۲۹	۲۸/۱۵
پاییز	۸۰	۲۴	۳۰
زمستان	۵۰	۱۵	۳۰
جمع کل	۲۳۳	۶۸	۲۹/۱۸ میانگین

Niscanen و همکاران در سال ۱۹۸۹ ارتباط خوبی بین نتایج الایزای سرم و الایزای شیر یافتند. لکن نشان دادند که عیار آنتی‌بادی در شیر پایینتر از سرم خون می‌باشد. با استفاده از الایزای شیر به صورت انفرادی و گله‌ای (Bulk milk) در غرب فرانسه، حساسیت الایزا را در مقایسه با VNT ۹۵ درصد و ویژگی آنرا ۹۷/۷درصد گزارش کردند (۵).

در انگلستان و ولز با بررسی نمونه شیر ۳۴۱ گله غیرواکسینه به روش الایزا میزان آلودگی گله‌ها را ۹۵ درصد برآورد کردند (۱۴). همچنین در سوئد میزان آلودگی گله‌ها به BVDV با استفاده از شیر فله به روش الایزا ۸۳ درصد گزارش شد (۱۳).

در تحقیق حاضر، با توجه به اینکه الایزای شیر فقط ۳/۷۲ درصد کمتر از الایزای سرم توانست موارد مثبت را پیدا کند، ولی با استفاده از آزمونهای آماری استودنت تی و مربع کای با سطح اطمینان ۹۵ درصد اختلاف معنی دار آماری بین درصد موارد الایزا مثبت شیر (۲۷/۶۵درصد) و سرم خون (۳۱/۳۸درصد) مشاهده نگردید و از طرفی بین نتایج به دست آمده از سرم- الایزا و شیر- الایزا ۹۶درصد همخوانی وجود داشت. از اینرو نشان داده شد که به راحتی می‌توان نمونه‌های شیر را به جای سرم خون در آزمون الایزا جهت تعیین وضعیت آلودگی گله به BVDV، به کار برد. تنها نکته قابل گفتن آن است که گرچه تیتر آنتی‌بادی در شیر در اکثر نمونه‌ها پایینتر از سرم بود، ولی مقدار آنتی‌بادی در نمونه‌های مثبت به آن اندازه بود که OD به دست آمده از آن مساوی یا بزرگتر از ۲/۵ برابر OD شیر رفرنس منفی باشد. از طرف دیگر نظر به اینکه حدود ۱۰ درصد از گاوان سرم مثبت، حیوانات PI هستند و شیوع گاوان PI در گله‌های آلوده بین ۱ تا ۴ درصد گزارش شده است (۱۷). به احتمال زیاد در تحقیق حاضر نیز ۷ نمونه شیر الایزا منفی که سرم- الایزا مثبت بودند، به علت پایین بودن آنتی‌بادی در شیر گاوهای PI بوده است. با توجه به نتایج مطالعات ذکر شده می‌توان گفت که الایزای شیر با آزمون VNT، که تست استاندارد است برابری دارد (۷) و نتیجه‌گیری می‌شود که الایزای شیر می‌تواند به عنوان یک تست غربالی در تعیین آلودگی گله به BVDV به کار رود و دیگر اینکه در بررسیهای شیوع سرمی در مقیاس بالا نسبت به سرم خون ارجحیت داشته، زیرا نمونه‌برداری آن آسانتر است.

جدول ۴- درصد فراوانی آلودگی گاوان به BVDV در گله‌هایی که سابقه سقط جنین و یا ناباروری داشته‌اند در مقایسه با گله‌هایی که چنین سابقه ای نداشته‌اند.

سابقه سقط جنین و یا ناباروری در گله	تعداد گله	تعداد نمونه	تعداد الایزا مثبت	درصد الایزا مثبت
وجود داشته	۱۰	۱۰۵	۳۶	۳۴/۲۸
وجود نداشته	۱۴	۱۲۸	۳۲	۲۴/۴۲
جمع کل	۲۴	۲۳۳	۶۸	۲۹/۱۸ میانگین

References

۱. صدیقی‌نژاد، س. (۱۳۷۵): بررسی اسهال ویروسی گاو/ بیماری مخاطی در ایران، پژوهش و سازندگی شماره ۳۰، صفحه: ۱۳۱-۱۲۸.

۲. کارگرمؤخر، ر.، اهورایی، پ.، حسامی، م.، تقی‌پوربازرگانی، ت.، غلامی، م.، خدمتی، ک.، قابوسی، ب. و جهانگیری، م. (۱۳۷۴): گزارش وجود میزان شیوع بیماری BVD/MD در گاوداریهای اطراف تهران. پژوهش و سازندگی، شماره ۲۸، صفحه: ۱۱۶-۱۱۲.

۳. همت‌زاده. ف.، کجوری، غ.، کارگرمؤخر، ر. و روحانی، م. (۱۳۸۰): بررسی سرمی بیماری اسهال ویروسی گاوان در استان چهارمحال و بختیاری، مجله دانشکده دامپزشکی تهران، دوره ۵۶، شماره ۳، صفحه: ۹۲-۸۵.

4. Baker, J.C. (1995): The clinical manifestation of Bovine Viral Diarrhea infection. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 11: 425-446.

5. Beaudeau, F., Belloce, C., Seegers, H., Assie, S., pourguier, P. and Joly, A. (2001): Informative value of an indirect ELISA for the detection of BVDV antibodies in milk. J. Vet. Med. B48: 705-712.

6. Bradford, P. Smith. (2002): Large Animal Internal Medicine, 3rd ed. Mosby. Inc. London. PP: 707-714.

7. Durham, P.J.K. and Hassard, L.E. (1990): An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to bovine viral diarrhea virus. Vet. Microbiol. 22:1-10.

8. Houe, H., Baker, J.C. and Maes, R.K. (1995): Prevalence of cattle presistently infection with BVDV in 20 dairy herds in two parties in central Michigan and comparison of prevalence of antibody- positive cattle among herds with different infection and vaccination status. J. Vet. Diag. Invest. 7: 321-326.

9. Justewics, D.M., Magar, R., Marsolais, G. and Locomte, J. (1987): Bovine viral diarrhea virus infected MDBK monolayer as antigen in ELISA for the measurment of antibodies in bovine sera, Vet. Immunol. Immuno pathol. 14: 377-384.

10. Kramps, J.A, Van Maanm, C., Vande wetering. G., Quak, S., Brinkof, J. and Nylin, B. (1999): A simple, rapid and reliable ELISA for the detection of bovine viral diarrhea virus specific antibody in cattle serum, plasma and bulk milk. Vet. Microbiol. 64: 135-144.

11. Moenning, V., Leder, L., Grieser-wilke, I., Fray, H.R. and Liess, B. (1991): A new enzyme immunoassay for the detection of antibodies against bovine viral diarrhea virus. Tierarztliche paraxis. 19: 35-38.

12. Niskanen, R., Alenius, S., Larsson, B. and Juntti, N. (1989): Evaluation of an ELISA for detection of antibodies to bovine viral diarrhea virus in milk. J. Vet. Med. B 36: 113-118.

13. Niskanen, R. (1993): Relationship between the levels of antibodies to bovine viral diarrhea virus in bulk tank milk and the prevalence of cows exposed to the virus. Vet. Record. 133: 341-344.

14. Paton, D.J., Christiansen, K.H., Alenius, S., Cranwell, M.P. and Derw, T.W. (1998): Pervalence of antibodies to bovine viral diarrhea virus in bulk tank milk in England & Wales. Vet. Record. 142: 385-391.

15. Potfieter, L.N.D. (1995): Immunology of bovine viral diarrhea virus. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 11 (3): 501-520.

16. Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C., Blood, D.C. and Hinchcliff, K.W. (2000): Veterinary Medicine, 9th ed. W.B. Saunders Co. London. PP: 1085-1105.

17. Salikim, J.T., Juchzermier, R. and Dubovi, E. J. (2000): Evaluation of a new sandwich ELISA kit using serum for detection of cattle persistently infected with BVD virus. Annual NY Academic Science. 916: 358-363.