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 وضعیت آلودگی ماده گاوهای هلشتاین پیر به ویروس کمبود ایمنی گاو (BIV) و ارزیابی بالینی آن‌ها در برخی از گاوداری‌های شیری اطراف تبریز

محمد طلوعی[1*]، صمد فراشی[2]، حامد پناه پور[3]

۱. دانشگاه تبریز، استادیار دانشکده دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، تبریز، ایران
۲. دانشگاه تهران، دانشجوی دوره دکترای تخصصی دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، تهران، ایران
۳. دانشگاه تبریز، دانشکده دامپزشکی، دانش آموخته دامپزشکی، تبریز، ایران
** نویسنده مسئول مکاتبات: Mtooloei@Tabrizu.ac.ir*

(دریافت مقاله: ۹۱/۷/۲۵، پذیرش نهایی: ۹۱/۱۱/۱۱)

چکیده

ویروس کمبود ایمنی گاو، لنتی‌ویروسی از خانواده بزرگ رتروویروس‌ها می‌باشد. در امکان ایجاد عوارض عفونی متنوع ناشی از اختلال سیستم ایمنی توسط آن و در نتیجه خسارات اقتصادی حاصله نظرات متفاوتی ارائه شده است. نظر به فراوانی آلودگی با این ویروس در گاوداری‌های کشورهای مختلف و ارتباط این آلودگی‌ها با وقوع اختلالات بالینی، انجام مطالعات بسیار اندک در ایران و همچنین احتمال همبستگی میزان آلودگی با افزایش سن و در نتیجه پیشنهاد وازد نمودن گاوهای پیر به ظاهر سالم، این تحقیق با هدف تعیین وضعیت آلودگی با این ویروس و بررسی اختلالات بالینی در گاوهای هلشتاین مسن در برخی از گاوداری‌های اطراف تبریز به اجرا در آمد. در این مطالعه به برخی گاوداری‌های شیری اعم از سنتی یا صنعتی و عمدتاً واحدهای کوچک اطراف تبریز مراجعه شد. ۵۰ رأس گاو شیری هلشتاین به ظاهر سالم با سن بالاتر از ٦ سال انتخاب و مشخصات انفرادی و بالینی آنها ثبت گردید. از دام های مورد مطالعه نمونه‌های خون جهت ردیابی ژنوم BIV تهیه شد. نتایج واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز از نوع نستد، روی نمونه‌ها نشان دادند که آلودگی با ویروس کمبود ایمنی گاو در گاوهای مورد مطالعه، به میزان ۲ درصد (یک رأس از ۵۰ مورد) وجود دارد. بین میزان آلودگی به این ویروس و سن رابطه آماری معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین بین میزان آلودگی و درجه وضعیت بدنی، میزان تولید شیر، وجود اختلالات بالینی، وجود سابقه اختلالات بالینی، حالت ظاهری عقده‌های لنفاوی، حضور یا بزرگ شدگی عقده های خونی رابطه آماری معنی‌داری مشاهده نشد. بررسی حاضر نشان داد که گاوهای هلشتاین نمونه-برداری شده واجد آلودگی بسیار پائینی با ویروس BIV هستند و برخلاف برخی مطالعات گذشته و مطابق با برخی دیگر، افزایش سن تاثیری در حساسیت به آلودگی با این ویروس ندارد. کوچک کردن واحدهای گاوداری و کاهش تراکم گاو در آنها، می‌تواند در پیشگیری و کنترل آلودگی با BIV کمک‌کننده باشد.

مجله آسیب شناسی درمانگاهی دامپزشکی، ۱۳۹۱، دوره ٦، شماره ٤، پیاپی ٢٤، صفحات: ١٦٨٨-١٦٧٥.

کلید واژه‌ها: ویروس کمبود ایمنی گاو، گاو هلشتاین، واکنش زنجیره‌ای پلی مراز، سن، تبریز

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

مقدمه

ویروس کمبود ایمنی گاو (Bovine Immunodeficiency Virus) از اعضای گروه لنتی ویروس‌ها متعلق به خانواده بزرگ رتروویروس‌ها می‌باشد (Avidan and Hizi, 2008). BIV اولین بار در سال ١٩٦٩ از یک گاو ماده ٨ ساله با وضعیت بدنی ضعیف در لوئیزیانا ایالات متحده آمریکا جدا شد (جدایه R29) و توسط Van der Maaten و همکاران، در سال ١٩٧٢ گزارش گردید. جدایه‌های FL112 و FL491 این ویروس نیز از فلوریدا گزارش شده است (Surarez et al., 1993). گوساله، گوسفند، بز و خرگوش به‌صورت تجربی به این ویروس آلوده شده و سرم مثبت شده‌اند (Baron et al., 1998; Hirai et al., 1995; Walder et al., 2001) ولی آلودگی طبیعی عمدتاً در گاوها بوده است (Walder et al., 2001). تاکنون مدرکی دال بر انتقال این ویروس به انسان وجود ندارد (Andrews et al., 2003; Gradil et al., 1999; Radostitis et al., 2007). فرض بر آن است که BIV، مشابه دیگر لنتی ویروس-ها به‌وسیله تبادل مایعات بدن منتشر می‌شود (Belloc et al., 1996). آلودگی واکسن، سرسوزن‌های آلوده، معاینه رکتومی انتقال از طریق شیر، لکوسیت‌های منی گاوهای نر و انتقال عمودی نیز به‌عنوان روش‌های محتمل انتقال پیشنهاد شده‌اند (Nash et al., 1995; Cary et al., 2002; Meas et al., 2002 b; Scholl et al., 2000).

آلودگی با این ویروس در جمعیت گاوهای کشورهای مختلف دنیا از جمله مناطق مختلف ایالات متحده آمریکا (Radostitis et al., 2007; St. Cyr et al., 1994)، استرالیا، اندونزی، نیوزلند (Andrews et al., 2003; Barboni et al., 2001; Radostitis et al., 2007)، کشورهای اروپایی از جمله آلمان، فرانسه (Polack et al., 1996)، هلند (Horzinek et al., 1991) و ایتالیا (Carivani et al., 1998)، کشورهای آسیایی از جمله ژاپن (Meas et al., 2002 b; Usui et al., 2003)، کره (Cho et al., 1999)، پاکستان (Meas et al., 2000 b)، ترکیه (Meas et al., 2003)، روسیه (Kolotvin et al., 2007)، کامبوج (Meas et al., 2000a)، کشورهای آفریقایی (Meas et al., 2004) و آمریکای جنوبی از جمله ونزوئلا ، برزیل (Meas et al., 2002 a) و آرژانتین (Gonzalez et al., 2008) از ١ الی حدود ٦٠٪ گزارش شده است.

با توجه به شباهت‌های BIV با HIV، فرض این موضوع که این ویروس نیز بایستی در گاو اثرات آسیب‌زایی مشابهی داشته و سلامتی آنها را به‌صورت مزمن، به خطر اندازد، توجیه‌پذیر می‌باشد اما احتمالاً به علت عمر اقتصادی پائین گاو و دوره کمون بالای ویروس، سندروم‌های بالینی و اثرات آسیب‌زائی ایجاد شده توسط این ویروس در گاو شناخته نمی‌شوند (Carivani et al., 1998; Isaacson et al., 2007). تغییرات پاتولوژیکی متعددی در گاوهای آلوده به BIV شامل اختلال در عملکرد مونوسیت‌ها، آنسفالوپاتی، لنفوآدنوپاتی و کمبود ایمنی گزارش کرده‌اند (Meas et al., 2001; Meas et al., 2002 b; Everman et al., 2000; Cho et al., 1999). لاغری (Meas et al., 2000 b; Polack et al., 1996; Snider et al., 2003 a; Snider et al., 1996)، کاهش تولید شیر (Meas et al., 2000 a; Snider et al., 2003 a; Usui et al., 2003)، بزرگی عقده‌های خونی، لنفادنوپاتی، نشانه‌های عصبی، لنگش، آتاکسی، پاراپلزی و طیف وسیعی از بیماری‌های ثانویه (Andrews et al., 2003; Snider et al., 2003 a; Snider et al., 2003 b; Snider et al., 1996; Nikbakht et al., 2009) از نشانه‌های گزارش شده آلودگی هستند. در مطالعه‌ای متداول‌ترین یافته پس از کشتار در گاوهای آلوده به این ویروس را درگیری عقده‌های لنفاوی بدن دانسته‌اند که تبدیل به عقده‌های خونی

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

گرد و بزرگ به رنگ سیاه شده و یا در درون خود حاوی این عقده‌های خونی می‌شوند (Munro et al., 1998). در بررسی دیگر عقده‌های خونی بزرگ شده، عمدتاً در ناحیه گردن یا هم در ناحیه گردن و هم در ناحیه تهیگاهی و گاهی پهلوها به‌صورت قرینه قابل لمس یا مشاهده بودند (Tagipour Bazargani et al., 2010).

به خاطر مشکل بودن تشخیص دام‌های آلوده از طریق جداسازی ویروس و محدودیت‌های روش‌های سرولوژیک از جمله عدم شناسایی آنتی بادی در مراحل اولیه یا مزمن آلودگی، عمدتاً به طور موفقیت‌آمیزی اقدام به شناسایی DNA پرووویروسی با به‌کارگیری پرایمرهای *pol* و *gag* به روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز به ویژه نوع نستد، در لکوسیت‌های خونی، نسوج لنفاوی یا عصبی نموده‌اند (Andrews et al., 2003; Gradil et al 1999; Patil et al., 2003; Snider et al., 2003 a; Orr et al., 2003) و به نظر می‌رسد که این روش، قابل اعتمادترین و حساس‌ترین روش (حساسیت ٨٠٪ و ویژگی ٨٦٪) در تشخیص این ویروس می‌باشد (Lew et al., 2004). ویروس می‌تواند از سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی، طحال، عقده‌های لنفاوی و مغز در طول زندگی حیوانات آلوده جدا شود (Belloc et al., 1996).

در مطالعات محدود صورت گرفته در ایران که عمدتاً در ٣ سال اخیر انجام گرفته‌اند، میزان آلودگی با این ویروس در گاوهای هلشتاین استان‌های مختلف از ٧/٥٪ (Tolouei et al., 2010)، ١٦/٢٪ (Tagipour Bazargani et al., 2010)، ٢٠/٣٪ (Nikbakht et al., 2009) تا ٦٠٪ (Tajbakhsh et al., 2010) متغیر بوده است.

تاثیر سن دام‌ها در حساسیت به آلودگی با این ویروس، شناسایی شده و در مطالعه‌ای روی گاوهای شیری در میسی سیپی نشان داده شد که میزان آلودگی با افزایش سن گاوها افزایش معنی‌داری می‌یابد (St Cyr et al., 1994; Tagipour Bazargani et al., 2010). لذا، نظر به آلودگی با این ویروس درگاوداری‌های کشورهای مختلف و حتی ایران و ارتباط محتمل این آلودگی‌ها با وقوع اختلالات بالینی و با توجه به انجام مطالعات بسیار اندک در ایران و همچنین احتمال همبستگی میزان آلودگی با افزایش سن و در نتیجه پیشنهاد وازد نمودن گاوهای پیر به ظاهر سالم، این تحقیق با هدف تعیین وضعیت آلودگی با این ویروس و بررسی اختلالات بالینی در گاوهای هلشتاین مسن در برخی از گاوداری‌های اطراف تبریز به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

جمعیت دام‌های مورد مطالعه، روش نمونه‌گیری و ثبت اطلاعات: جمعیت مورد هدف این بررسی، ٥٠ رأس گاو هلشتاین پیر (بالای ٦ سال که حداقل ٤ زوج دندان بالغ داشته و روندهای فرسایشی در دندان‌های آن‌ها شروع شده باشد) بودند. برای این منظور، در فاصله زمانی اوایل پاییز تا اواخر زمستان سال ١٣٩٠، با مراجعه به برخی گاوداری‌های شیری اعم از سنتی یا صنعتی و عمدتاً واحدهای کوچک اطراف تبریز، اقدام به معاینه و نمونه‌گیری از گاوهای پیر گردید. نمونه‌های خونی به میزان ٥ میلی لیتر از ورید دمی و در لوله‌های ونوجکت حاوی ماده ضد انعقاد EDTA (شرکت Vaccute ساخت کشور اتریش) اخذ شدند. برای هر دام، لوله ونوجکت و سرسوزن نو مورد استفاده قرار گرفت. مشخصات دام‌های مورد نمونه‌برداری از جمله میزان تولید، تعداد شکم زایش، وضعیت بالینی دام شامل درجه وضعیت بدن (BCS)، وضعیت عقده‌های لنفاوی و عقده‌های خونی، وضعیت اندام‌های حرکتی (از لحاظ لنگش)، وضعیت تولید مثلی (اختلالات موجود و سابقه اختلالات)، وضعیت دستگاه گوارش (اختلالات موجود و سابقه اختلالات)، تنفس، عصبی، بینایی، پوشش خارجی، پستان‌ها و سایر دستگاه‌های بدن مورد ارزیابی قرار گرفته و ثبت شدند. نمونه‌های خون اخذ شده به منظور جستجوی ژنوم ویروس BIV در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل شدند.

آماده سازی و استخراج DNA: گلبول‌های قرمز نمونه‌ها با استفاده از محلول بافر A (لیزکننده گلبول‌های قرمزحاوی Tris-HCl، MgCl2، Nacl، Triton x 100) و سلول‌های سفید توسط محلول بافر B (لیز کننده گلبول‌های سفید حاوی Tris-HCl، Nacl، EDTA نیم مول، SDS۱۰٪) لیز شده و با اضافه نمودن محلول گوانیدیوم 5M و سپس محلول استات پتاسیم و در نهایت سانتریفوژ نمودن کل مجموعه با rpm۱٤۰۰۰، DNA سلولی در مایع رویی آزاد می‌شد. بدنبال اضافه نمودن ۰/۷حجم محلول ایزوپروپانول سرد به مایع رویی و سانتریفیوژ آن، DNA در ته میکروتیوب رسوب کرده و با محلول اتانول شستشو شده و با سانتریفوژ و دور ریختن محلول رویی اتانول، پلیت DNA در هوای تمیز خشک شده و با اضافه نمودن محلول TE روی آن، DNA به‌دست آمده جهت استفاده PCR آماده بوده و به فریزر۲۰- درجه سانتی‌گرادمنتقل می‌شد. به منظور تائید صحت مرحله استخراج DNA، این نمونه‌ها با استفاده از پرایمرهای ژن (GAPDH)، PCR شده و نتیجه روی ژل برده شدند تا از حضور این ژن در پروفایل به‌عنوان معیار صحت استخراج DNA استفاده شود. ردیف اولیگونوکلئوتیدی پرایمرهای ژن GAPDH شامل:

F(5'-TGGCAAAGTGGACATCGTCG-3') و

R (5'-TTGCGTGGACAGTGGTCATAAGTC-3') بودند.

پرایمرهای اولیگونوکلئوتیدی: برای ردیابی حضور DNA پروویروسی BIV، پرایمرهای ژن *gag* ویروس، انتخاب شدند (جدول ۱).

جدول ۱- توالی نوکلئوتیدی و موقعیت پرایمرهائی مورد استفاده در آمپلیفیکاسیون قطعه ژن gag ویروس کمبود ایمنی گاو

مرحله واکنش	پرایمر	ژن	موقعیت در ژنوم ویروس	توالی اولیگونوکلئوتید	اندازه محصول (جفت بازbp)
PCR دور اول	Gag F	gag	٦٥٣-٦٧٣	5' – AGGCCAGAGCTGATAAGGAA - 3'	٧٤٠
	Gag R	gag	١٣٧٣-١٣٩٣	5' – ATCCCACTACCCTACATGCT - 3'	
PCR دور دوم	Gag 3	gag	٨٢١-٨٣٩	5' – AGATCTGGTCAGACGCCA - 3'	٣٩٢
	Gag 4	gag	١١٩٩-١٢١٣	5' – CCAAGGAGCCGTACACAG - 3'	

این پرایمرها مطابق با سکانس BIV سویه NC-001413.1 که در بانک ژنی سایت PubMed بنام سویه رفرانس معرفی شده بودند (Garvey et al., 1990) و با کمک نرم‌افزار Fast PCR 5.2، طراحی شدند. تمامی پرایمرهای استفاده شده از شرکت Prime ایتالیا تهیه شدند.

آمپلیفیکاسیون DNA پروویروسی: به منظور شناسائی DNA پروویروسی BIV در ژنوم سلول‌های تک‌هسته‌ای گاوهای مورد مطالعه، با به‌کارگیری پرایمرهای اختصاصی، از روش نستد PCR که توسط Nadin-Davis و همکاران (۱۹۹۳) توضیح داده شده، استفاده شد. به طور خلاصه در این روش، برای شناسائی یک قطعه DNA ۳۲۹ جفت بازی از سکانس ویروس مذکور مطابق با نوکلئوتید ۱۲۱۳-۸۲۱ ژن gag، آمپلیفیکاسیون دو مرحله‌ای انجام گرفت. در هر سری از واکنش‌ها، حداقل یک نمونه کنترل منفی بدون DNA و یک نمونه DNA پلاسمید GAG (PBIV300) حاوی سکانس‌های کامل DNA پروویروسی BIV (که از کشور کانادا – اتاوا از Susan Nadin-Davis دریافت گردید)، به‌عنوان کنترل مثبت استفاده می‌شد. حجم مخلوط نهائی هر واکنش به ۵۰ میکرولیتر

می‌رسید. مواد مورد استفاده و حجم هر کدام از آنها برای به‌دست آوردن مخلوط نهائی عبارت بودند از: ١٠٠ نانوگرم (٢میکرولیتر) DNA ژنومی سلول‌ها (در واکنش مرحله دوم PCR، به جای نمونه DNA، یک میکرولیتر از محلول PCR مرحله اول استفاده می‌شد)، ٣٨/٥ میکرولیتر آب (در واکنش مرحله دوم، ٣٩/٥ میکرولیتر)، ٥ میکرولیتر بافرx١٠ (حاوی mM٢٠Tris-HCl با pH=8.8، mM ٥٠ KCl، Triton X100 ٠/١٪)، ١/٥میکرولیتر MgCl2 ٥٠ mM، ٢ میکرولیتر dNTPs ١/٢٥مولار حاوی ٥ میلی مول از هر dNTP، ٠/٥ میکرولیتر از هر پرایمر و ٠/٢ میکرولیتر (حاوی ٥ واحد در هر میکرولیتر) Taq پلی مراز.

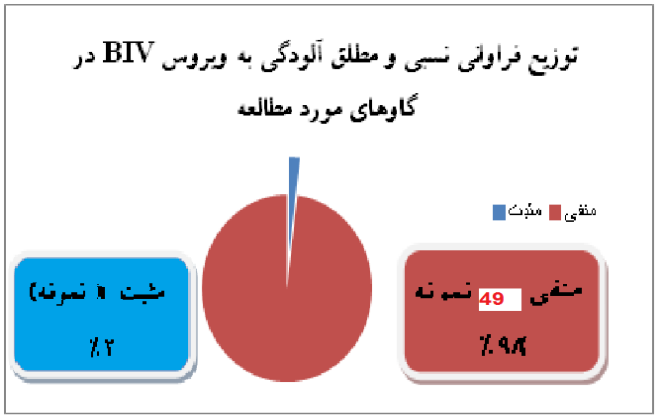
چرخه‌های حرارتی با استفاده از یک دستگاه ترموسایکلیر Techne مدل Tc 512، به ترتیب زیر انجام گرفت: پس از مرحله واسرشت سازی اولیه در ٩٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ٣ دقیقه، مراحل کامل آمپلیفیکاسیون برای ٣٤ سیکل تکرار شدند، بدین صورت که در تمام سیکل‌ها، مرحله اول (واسرشت سازی) و سوم (ساخت رشته مکمل هدف) به ترتیب در ٩٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ١ دقیقه و ٧٢ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢ دقیقه انجام شده و سپس مرحله نهائی ساخت رشته مکمل با ١٠ دقیقه در ٧٢ درجه سانتی‌گراد دنبال شدند با این تفاوت که مرحله دوم (چسبیدن پرایمرها به هدف)، در هر سیکل به مدت ١ دقیقه، در دو سیکل ابتدائی در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد، در دو سیکل بعدی در ٥٧/٥ درجه سانتی‌گراد و در ٣٠ چرخه آخر در ٥٥ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. بدین شکل مرحله اول PCR در ٣٤ چرخه تمام شده و سپس محصول واکنش PCR مرحله اول، آماده‌سازی و رقیق‌تر شده و آمپلیفیکاسیون مرحله دوم روی آن، در همان شرایط انجام می‌شد.

شناسائی محصول PCR: محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز و جداسازی روی ژل آگارز ١٪، با بکارگیری یک دستگاه ترانس لومیناتورUV و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، سپس تصویربرداری مورد ارزیابی قرار گرفتند.

تحلیل آماری: بررسی آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 14.5 و بکارگیری آزمون‌های فیشر، مک نمار و محاسبه آماری کاپا برای مقایسه نتایج آزمون PCR با بزرگ‌شدگی عقده‌های خونی، مربع کای برای سنجش ارتباط بین متغیرهای سن، حضور اختلال بالینی و درجه وضعیت بدنی با نتایج آلودگی انجام شد. با آزمون کولموگرو- اسمیرنو از نرمال بودن توزیع داده‌ها، اطمینان حاصل شد.

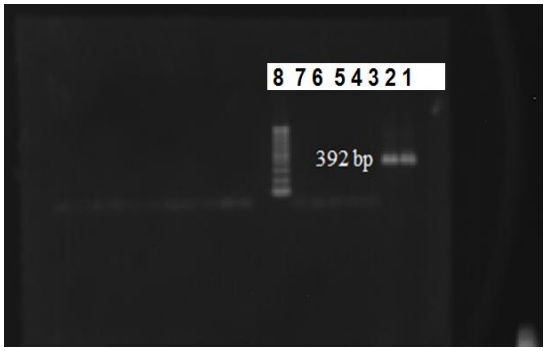
یافته‌ها

میزان آلودگی به ویروس کمبود ایمنی گاو: نتایج Nested- PCR روی DNA های استخراج شده از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی ٥٠ رأس گاو مورد بررسی با استفاده از پرایمرهای ژن gag ویروس کمبود ایمنی نشان داد که در PCR دور اول، هیچ باند آشکاری به‌دست نیامد ولی در PCR دور دوم، در ١ نمونه، قطعه bp ٣٩٢ دیده شد، لذا مورد مذکور واجد DNA پروویروسی کمبود ایمنی گاو بوده که میزان آلودگی گاوهای این مطالعه با این آزمون برابر ٢ درصد برآورد شد (نمودار ١).

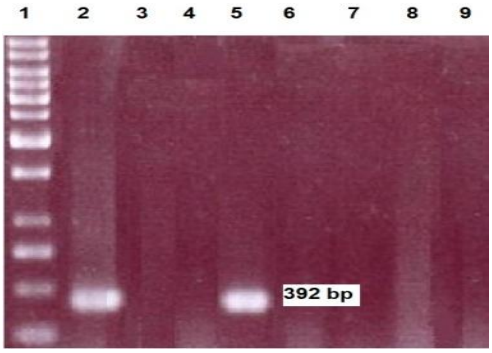


نمودار ١: توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی به ویروس کمبود ایمنی گاو بر اساس نتایج حاصل از آزمون واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در ٥٠ رأس گاو مورد مطالعه

تصویر ژل آگاروز چند نمونه از محصولات PCR آمپلیفای شده با پرایمرهای ژن gag ویروس کمبود ایمنی گاو که با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شده‌اند، در نگاره‌های ١ و ٢ آمده است. با توجه به پرایمرهای مورد استفاده در این واکنش، باند مورد انتظار برای تشخیص وجود ژنوم ویروس کمبود ایمنی گاو، قطعه‌ای به طول bp ٣٩٢ بود که حضور آن بیانگر اختصاصی بودن باند تکثیر یافته شده در PCR می‌باشد.



نگاره ١- ژل آگاروز مربوط به الکتروفورز تعدادی از نمونه‌های محصولات PCR آمپلیفای شده با پرایمرهای ژن gag ویروس کمبود ایمنی گاو که با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شده و با اشعه ماورابنفش تصویر برداری شده‌اند: خط ٨ مارکر یک کیلوبازی و خطوط ١ و ٢ کنترل مثبت را نشان می‌دهند. لازم به ذکر است هیچ نمونه مثبتی در این ژل آگارز وجود ندارد.



نگاره ٢- ژل آگاروز مربوط به الکتروفورز تعدادی از نمونه‌های محصولات PCR آمپلیفای شده با پرایمرهای ژن gag ویروس کمبود ایمنی گاو که با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شده و با اشعه ماورابنفش تصویر برداری شده‌اند: نمونه مثبت با حضور باند ٣٩٢ جفت بازی مشخص شده است (خط ٥). خط ١ مارکر یک کیلوبازی و خط ٢ کنترل مثبت را نشان می‌دهند. خط ٣، ٤ ، ٦ ، ٧ ، ٨ و ٩ نمونه‌های منفی را نشان می‌دهند.

فراوانی آلودگی در رده‌های سنی و مشخصات بدنی و تولیدی مختلف: توزیع وضعیت آلودگی به ویروس کمبود ایمنی گاو در گروه‌های سنی مختلف در جدول ٢، در گاوها با درجه وضعیت بدنی مختلف در جدول ٣ و در گاوها با میزان تولید شیر مختلف در جدول ٤ خلاصه شده‌اند:

جدول ٢- توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی با ویروس کمبود ایمنی گاو در گروه‌های سنی مختلف در گاوهای مورد مطالعه

آلودگی	دارد		ندارد		جمع	
سن (سال)	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد
٦	١	١٠	٩	٩٠	١٠	١٠٠
٧	٠	٠	١٣	١٠٠	١٣	١٠٠
٨	٠	٠	١٢	١٠٠	١٢	١٠٠
٩	٠	٠	٨	١٠٠	٨	١٠٠
١٠	٠	٠	٥	١٠٠	٥	١٠٠
١١	٠	٠	٢	١٠٠	٢	١٠٠
جمع	١	٢	٤٩	٩٨	٥٠	١٠٠

جدول ٣- توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی به ویروس کمبود ایمنی گاو در گاوها با درجه وضعیت بدنی (B.C.S) مختلف

آلودگی	دارد		ندارد		جمع	
B.C.S	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد
١-٢	٠	٠	١١	١٠٠	١١	١٠٠
٢/٢٥-٣	١	٢/٨	٣٥	٩٧/٢	٣٦	١٠٠
٣/٢٥-٤	٠	٠	٣	١٠٠	٣	١٠٠
جمع	١	٢	٤٩	٩٨	٥٠	١٠٠

جدول ٤- توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی به ویروس کمبود ایمنی گاو در گاوها با میزان تولید شیر مختلف

آلودگی	دارد		ندارد		جمع	
تولید شیر	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد
کم (١٠-١٥ kg)	٠	٠	١٥	١٠٠	١٥	١٠٠
متوسط (١٥-٢٥ kg)	١	٤/٥	٢١	٩٥/٥	٢٢	١٠٠
زیاد (بالای ٢٥ kg)	٠	٠	١٣	١٠٠	١٣	١٠٠
جمع	١	٢	٤٩	٩٨	٥٠	١٠٠

فراوانی آلودگی در گاوها بر اساس حضور اختلالات بالینی: ٨ رأس از گاوهای مورد مطالعه واجد یک یا چند بیماری یا اختلال در دستگاه‌های مختلف بودند که یک رأس از این گروه دام‌ها (١٢/٥ درصد) آلوده به ویروس کمبود ایمنی گاو تشخیص

داده شدند (جدول ٥). از ٨ رأس گاو مذکور، یک رأس مبتلا به تب شیر در حال درمان، ٤ رأس مبتلا به لنگش و ناراحتی اندام‌های حرکتی، یک رأس واجد اختلالات گوارشی (سوء هاضمه)، یک رأس مبتلا به تب برفکی و یک رأس مبتلا به پنومونی بودند.

جدول ٥- توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی به ویروس کمبود ایمنی گاو در گاوهای واجد و فاقد اختلالات بالینی

آلودگی / اختلالات بالینی	دارد		ندارد		جمع	
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد
دارد	١	١٢/٥	٧	٨٧/٥	٨	١٠٠
ندارد	٠	٠	٤٢	١٠٠	٤٢	١٠٠
جمع	١	٢	٤٩	٩٨	٥٠	١٠٠

فراوانی آلودگی در گاوها بر اساس واکنش یا بزرگ‌شدگی عقده‌های لنفاوی و عقده‌های خونی: از ٥٠ رأس گاو مورد مطالعه، ٨ رأس دارای بزرگ‌شدگی عقده‌های لنفاوی بودند، که هیچ کدام از آنها آلوده به ویروس کمبود ایمنی تشخیص داده نشدند (جدول ٦).

جدول ٦- توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی به ویروس کمبود ایمنی گاو در گاوها بر اساس واکنش یا بزرگ شدگی عقده‌های لنفاوی

آلودگی / بزرگی عقده‌های لنفاوی	دارد		ندارد		جمع	
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد
دارد	٠	٠	٨	١٠٠	٨	١٠٠
ندارد	٠	٠	٤٢	١٠٠	٤٢	١٠٠
جمع	٠	٠	٥٠	١٠٠	٥٠	١٠٠

در ١٤ رأس (٢٨ درصد) از ٥٠ گاو مورد مطالعه، در معاینه بالینی، حضور یا بزرگ شدگی عقده‌های خونی زیر پوستی در نواحی مختلف بدن مشخص گردید، که یک رأس از ١٤ رأس گاوی که عقده‌های خونی آن‌ها قابل تشخیص بودند (٧ درصد)، آلوده به ویروس کمبود ایمنی گاو تشخیص داده شدند (جدول ٧).

جدول ٧- توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی به ویروس کمبود ایمنی گاو در گاوها بر اساس حضور یا بزرگی عقده‌های خونی

آلودگی	دارد		ندارد		جمع	
حضور عقده‌های خونی دربالین	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد
دارد	١	٧	١٣	٩٣	١٤	١٠٠
ندارد	٠	٠	٣٦	١٠٠	٣٦	١٠٠
جمع	١	٢	٤٩	٩٨	٥٠	١٠٠

در آنالیز آماری هیچ ارتباط معنی‌داری بین آلودگی گاوها با این ویروس و سن، درجه وضعیت بدنی، میزان تولید شیر، حضور اختلالات بالینی و بزرگ شدگی عقده‌های لنفاوی یا عقده‌های خونی مشاهده نشد.

بحث و نتیجه‌گیری

ویروس کمبود ایمنی گاو لنتی‌ویروسی می‌باشد که با توجه به احتمال توانایی آن در ایجاد خسارات اقتصادی به صنعت گاوداری، بایستی در صنعت پرورش گاو، از مسائل مهم تلقی شده و لذا توجه متناسب را می‌طلبد. با توجه به پراکندگی جهانی عفونت با این ویروس و مشخص نبودن کامل اختلالات بالینی و آزمایشگاهی همراه در گاوهای آلوده و همچنین نظر به فراوانی بالای آلودگی با BIV در گاوداری‌های کشورهای مختلف و حتی ایرن و ارتباط این آلودگی‌ها با وقوع انواع اختلالات بالینی و ضررهای اقتصادی منتج از آن و همچنین انجام مطالعات بسیار اندک در ایران و احتمال آلودگی بیشتر با افزایش سن و در نتیجه پیشنهاد وازد نمودن گاوهای پیر به ظاهر سالم، این تحقیق با هدف تعیین وضعیت آلودگی به این ویروس به روش Nested- PCR و بررسی اختلالات بالینی در گاوهای هلشتاین پیر در برخی گاوداری‌های اطراف تبریز و عمدتاً واحدهای کوچک نیمه صنعتی و سنتی به اجرا در آمد. نتایج این بررسی نشان داد که آلودگی با ویروس کمبود ایمنی گاو در جمعیت گاوی مورد این مطالعه ٢٪ می‌باشد که این میزان آلودگی در مقایسه با نتایج به دست آمده از مطالعات قبلی صورت گرفته در ایران که میزان آلودگی را به روش شناسائی ژنومی در مناطق مختلف کشور، به ترتیب ٢٠/٣٪ (Nikbakht et al., 2009)، ١٦/٢٪ (Tagipour Bazargani et al., 2010)، ٦٠٪ (Tajbakhsh et al., 2010) و ٧/٥٪ (Tolouei et al., 2010) نشان داده‌اند، بسیار پائین می‌باشد.

میزان آلودگی به این ویروس در گاوهای برخی مناطق دنیا از جمله ایالات متحده آمریکا بالا بوده در حالی که در برخی مناطق از جمله استرالیا و اروپا پائین است. طوری که بیشترین میزان آلودگی با این ویروس در برخی نواحی ایالات متحده آمریکا مثل لوئیزیانا، کلرادو و ایالات جنوب شرقی با میزان آلودگی در حدود بیش از ٦٠ درصد در گاوهای شیری گزارش شده است (Radostitis et al., 2007; St. Cyr et al., 1994). برخی شواهد وجود دارد که در بعضی از گله‌های گاوی که حیوانات بدون صرفه اقتصادی زیادی دارند، شیوع حیوانات سرم مثبت ممکن است به میزان بالای ٩٥ درصد باشد. میزان وقوع آلودگی با این ویروس در کشورهای آسیایی، آمریکای جنوبی و آفریقائی نیز بالاست از جمله این میزان در ژاپن ٢٥-١٥٪ (Meas et al., 2002 b; Usui et al., 2003)، کره ٣٥٪ (Cho et al., 1999)، پاکستان ١٥/٨٪ (Meas et al., 2000 b)، ترکیه ١٢/٣٪ (Meas et al., 2003)، روسیه ٣٢٪ (Kolotvin et al., 2007)، کامبوج ٢٦/٣٪ (Meas et al., 2000 a)، زامبیا ١١/٤٪ (Meas et al., 2004)، ونزوئلا ٦٠-١٢٪، برزیل ١١/٧٪ (Meas et al., 2002 a) و آرژانتین ٤٢-٢٪ (Gonzalez et al., 2008) بوده است. این در حالی است که میزان آلودگی در گاوهای شیری استرالیا، بالی، اندونزی

و نیوزلند، ٥-١٪ (Andrews et al., 2003; Barboni et al., 2001; Radostitis et al., 2007) و در کشورهای اروپایی از جمله آلمان ٦/٦٪، فرانسه ٤٪ (Polack et al., 1996)، هلند ١/٤٪ (Horzinek et al., 1991) و ایتالیا ٥/٨٪ در گاوهای شیری و ٢/٥٪ در گاوهای گوشتی (Carivani et al., 1998)، گزارش شده که نسبتاً پائین می-باشد. شیوع عفونت در گاوهای شیری انتاریو نیز پائین است و ممکن است با کاهش در تولید شیر در ارتباط باشد. در گاوهای غرب کانادا نیز با استفاده از DNA مشتق از نمونه‌های بافی-کوت و مایع منی آنالیز شده به‌وسیله PCR نوع نستد، هیچ شواهدی از عفونت BIV یافت نشده است (Radostitis et al., 2007). در این مطالعه انجام یافته در تبریز، میزان آلودگی گاوها با ویروس کمبود ایمنی گاو به روش شناسائی ژنومی همانند کشورهای اروپائی، استرالیا و کانادا و برخلاف نتایج به-دست آمده در بررسی‌های آسیایی، آفریقایی و آمریکای جنوبی، بسیار پائین می‌باشد. در برخی کشورهای دیگر جهان نیز از جمله پرتغال، سوئیس، کرواسی، چین، کاستاریکا و هندوستان آلودگی گاوها با این ویروس گزارش شده است (Munro et al., 1998; Patil et al., 2003; Meas et al., 2000; Carivani et al., 1998).

در مطالعات محدود و قبلی صورت گرفته در ایران که به روش تشخیص ژنومی ویروس کار شده، میزان آلودگی گاوها به‌ترتیب در استان تهران، ٢٠/٣٪ (Nikbakht et al., 2009) و ١٦/٢٪ (Tagipour Bazargani et al., 2010)، در استان چهارمهال بختیاری ٦٠٪ (Tajbakhsh et al., 2010) و در استان آذربایجان‌شرقی ٧/٥٪ (Tolouei et al., 2010) گزارش شده است که میزان آلودگی در مقایسه با بررسی حاضر، در سه گزارش اول، بسیار بالا و در مطالعه آخر، نسبتا بالا می-باشد. دو مطالعه اول در کشتارگاه میثم تهران، مطالعه سوم در گاوداری‌های استان چهارمحال و بختیاری و مطالعه چهارم در گاوداری‌های صنعتی استان آذربایجانشرقی-تبریز انجام گرفته‌اند.

با در نظر گرفتن نتایج این چهار مطالعه قبلی به‌علاوه بررسی حاضر می‌توان نتیجه گرفت که اولاً میزان آلودگی گاوان با ویروس کمبود ایمنی گاو در مناطق مختلف ایران متفاوت بوده و ثانیاً این آلودگی در گاوان اطراف تبریز میزان نسبتا پائینی دارد. علت چنین تفاوتی را می‌توان به منشا گاوهای مورد مطالعه در این بررسی‌ها نسبت داد طوری که، در دو مطالعه اول انجام یافته در استان تهران، جمعیت گاوهای مورد بررسی، گاوهای ماده کشتاری بودند که به کشتارگاه میثم ارجاع داده شده بودند که احتمالاً حضور تعداد زیاد گاوداری‌های صنعتی بزرگ با سیستم پرورش بسته در کل و بی‌توجهی به بهداشت در این ارتباط در نواحی اطراف تهران، که بخشی از این دام‌ها نیز در کشتارگاه میثم کشتار می‌شوند، و همچنین وازد بودن بخش اعظم ماده گاوهای ارجاعی به کشتارگاه، در بالا بودن میزان آلودگی بررسی‌های مذکور بدون نقش نبوده‌اند. همچنین تفاوت بسیار بالای میزان شیوع ویروس کمبود ایمنی گاو در چهارمحال و بختیاری (٦٠٪) و مطالعه حاضر، ممکن است به علت رخداد آلودگی در انجام روش نستد PCR مطالعه فوق که روش بسیار حساس می‌باشد یا تفاوت وضعیت آب و هوایی و ناحیه جغرافیایی باشد. هم در مطالعه قبلی انجام‌یافته در گاوهای ناحیه تبریز (Tolouei et al., 2010) و هم در مطالعه حاضر میزان آلودگی به این ویروس در مقایسه با مطالعات صورت گرفته در مناطق دیگر ایران، نسبتاً پائین است، ولی به هر حال، تفاوت در میزان آلودگی در نتایج این دو بررسی قبلی و حاضر انجام شده در تبریز را می توان به تفاوت در نوع گاوداری‌های مورد نمونه-برداری، تراکم دام ها و بزرگی دامداری‌ها نسبت داد. تراکم بالای گاوها امکان انتشار ویروس را افزایش خواهد داد و در گاوداری‌های با تراکم بالا افزایش معنی‌داری در درصد وقوع آلودگی با این ویروس دیده شده است (Carivani et al., 1998; Snider et al., 1996). در مطالعه حاضر ٩٠٪ نمونه‌ها (٤٥ رأس گاو) از دامداری‌های کوچک (تقریباً ٢٠-١٠

رأسی) جمع آوری شده بودند در حالی که در مطالعه قبلی انجام شده، بین ٢٤ نمونه مثبت از ٣٢٠ نمونه مورد مطالعه، ١٤ نمونه مربوط به گاوداری‌های صنعتی بزرگ، ١٠ نمونه مربوط به گاوداری‌های صنعتی کوچک و گاوداری سنتی بودند (٣٪). تاثیر سن دام‌ها در حساسیت به آلودگی با این ویروس، شناسایی شده است (Belloc et al., 1996; St. Cyr et al., 1994) و در مطالعاتی نشان داده شد که میزان آلودگی با افزایش سن گاوها افزایش می‌یابد (Barboni et al., 2001; Carivani et al., 1998; St. Cyr et al., 1994). در این بررسی، رابطه بین افزایش میزان آلودگی با افزایش سن گاوها معنی‌دار نبود و نتایج مطالعات مذکور، مغایر با نتایج این بررسی هستند. البته با توجه به پائین بودن درصد کل آلودگی در مطالع حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که معنی‌دار نبودن ارتباط سنی شاید به دلیل ناکافی بودن تعداد نمونه‌های مثبت یا به‌عبارتی پائین بودن میزان آلودگی در کل مطالعه باشد.

ارتباط معنی‌داری بین آلودگی گاوها با این ویروس و درجه وضعیت بدنی آنها مشاهده نشد با این حال در برخی گزارشات، لاغری و کاهش وزن به عنوان یکی از نشانه‌های بالینی آلودگی با این ویروس ذکر می‌شود (Meas et al., 2000 b; Polack et al., 1996; Snider et al., 2003 a; Gonda et al., 1987; Snider et al., 1996). در بررسی حاضر رابطه معنی‌داری بین میزان آلودگی گاوها و حضور اختلالات بالینی یا آسیب‌های درشت‌بینی و همچنین واکنش ظاهری عقده-های لنفاوی در آنها مشاهده نشد که این نتایج همانند نتایج مطالعاتی هست که ارتباط پایدار و قابل توجهی را بین آلودگی به این ویروس و ایجاد بیماری بالینی اختصاصی در گاوها، مستند نکرده و نقش آن را در ایجاد بیماری در گاو، نامعلوم اعلام می‌نمایند (St.Cyr et al., 1994; Radostitis et al., 2007). با اینکه در برخی بررسی‌ها، درجات متفاوت لمفادنوپاتی عمومی یا موضعی را در این آلودگی ذکر کرده‌اند (Andrews et al., 2003; Snider et al., 2003 b) ولی عموماً معتقدند که هیچ ارتباط معنی‌داری بین واکنش و بزرگ شدگی عقده‌های لنفاوی و آلودگی به این ویروس، وجود ندارد (Snider et al., 2003a; Snider et al., 1996; Munro et al., 1998) که نتایج بررسی حاضر نیز با این موضوع هم-راستا است. بین میزان آلودگی به این ویروس و حضور یا بزرگ شدگی عقده‌های خونی در معاینه بالینی، رابطه معنی‌داری وجود نداشت که این نتیجه برخلاف یافته‌های گزارشاتی که بزرگ شدگی عقده‌های خونی را به‌عنوان یکی از نشانه‌های قابل توجه در گاوهای آلوده به ویروس کمبود ایمنی ذکر کرده‌اند (Brownlie et al., 1994; Tagipour Bazargani et al., 2010; Munro et al., 1998; Snider et al., 2003 b) بوده و همانند نتیجه مطالعه‌ای می‌باشد که بزرگ‌شدگی عقده‌های خونی را فقط در یک مورد از ٥٩ گاو واجد آلودگی طبیعی به این ویروس مشاهده نمودند (Snider et al., 1996). به هر حال در مطالعه حاضر میزان آلودگی گاوهای هلشتاین گاوداری‌های عمدتاً واحدهای کوچک و سنتی با ویروس کمبود ایمنی گاو به روش تشخیص DNA پرووویروسی، بسیار پائین بود. لذا، با توجه به نتایج این مطالعه و با در نظر گرفتن این مسئله که تراکم دام‌ها نیز در انتشار ویروس می‌تواند حائز اهمیت باشد، می‌توان از کوچک کردن واحدهای دامپروری و کاهش تراکم در گاوداری‌ها، به‌عنوان یکی از راهکارهای پیشگیری و کنترل آلودگی با BIV استفاده نمود. به نظر می‌رسد که شرایط نگه‌داری به عنوان یکی از فاکتورهای بسیار مهم در درگیری گاوها به این ویروس ایفای نقش می‌کند. لذا، نیاز به انجام مطالعات دیگر و تکمیلی در خصوص آلودگی گاوهای نگه‌داری شده در گاوداری‌های کاملاً سنتی و همچنین گاوهای بومی کشور احساس می‌شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از حمایت‌های مالی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز برای انجام این پژوهش قدردانی می‌شود. به علاوه نگارندگان از زحمات آقایان دکتر غلامرضا نیکبخت بروجنی و خرمالی،

دانشیار و کارشناس محترم دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران برای همکاری در انجام این تحقیق، صمیمانه تشکر می‌نمایند.

منابع

- Andrews, A.H., Blowy, W., Boyd, H. and Eddy, R.G. (2003). Bovine Medicine. 2nd Edition, Oxford UK, Blackwell Science, pp. 693-700.
- Avidan, O. and Hizi, A. (2008). Expression and characterization of the integrase of bovine immunodeficiency virus. Virology, 371(2):309-21.
- Barboni, P., Thompson, I., Brownile, J., Hartningsih, N. and Collins, M.E. (2001). Evidence of the presence of two bovine lentiviruses in cattle population of bali. Veterinary Microbiology, 80:313-327.
- Baron, T., Betemps, D., Mallet, F., Chenyet, V., Levly, D. and Belli, P. (1998). Detection of Bovine immunodeficiency –like virus infection in experimentally infected calves. Archive of Virology, 143:181-189.
- Belloc, C., Polack, B., Schwartz-Cornil, I., Brownlie, J. and Levy, D. (1996). Bovine immunodeficiency virus: facts and questions. Veterinary Research, 27:395-402.
- Brownlie, J., Collins, M.E. and Heaton, P. (1994). Bovine immunodeficiency-like virus- a potential cause of disease in cattle. Veterinary Record, 134:289-291.
- Carivani, S., Donofrio, G., Chiocco, D., Foni, E., Martelli, P., Allegri, G., Cabbasi, C.S., De Iaco, B. and Flammini, C.F. (1998). Seroprevalece to Bovine immunodeficiency virus and lack of association with leukocyte counts in Italian dairy cattle. Preventive Veterinary Medicine, 37:147-157.
- Cary, A.M., Pharr, G.T., Murphey, J., Hughlett, M.B., Weaver, C.C., Nelson, P.D. and Coats, K.S. (2002). Confirmation of vertical transmission of bovine immunodeficiency virus in naturally infected dairy cattle using the polymerase chain reaction. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 14:113–119.
- Cho, K.O., Meas, S., Park, N.Y., Kim, Y.H., Lim, Y.K., Endoh, D., Lee, S.I., Oashi, K., Sugimoto, C. and Onuma, M. (1999). Seroprevalence of Bovine Immunodeficiency virus in dairy and beef cattle heards in Korea. Journal of Veterinary Medical Scienc, 61:549-551.
- Evermann, F.J., Howard, T.H., Dubovi, E.J., Knowles, D.P. Jr., Miller, L.D., Pearson, J.E., Snider, T.G. and Suarez, D.L. (2000). Controversies and clarifications regarding bovine lentivirus infections. Journal of American Veterinary Medical Association, 217:1318-1324.
- Garvey, K.J., Oberste, M.S., Elser, J.E., Braun, M.J. and Gonda, M.A. (1990). Nucleotide sequence and genome organization of biologically active proviruses of the bovine immunodeficiency-like virus. Virology, 175:391-409.
- Gonda, M.A., Luther, D.G., Fong, S.E. and Tobin, G.J. (1994). Bovine immunodeficiency virus: molecular biology and virus-host interactions. Virus Research, 32:155-181.
- Gonzalez, E.T., Licursi, M., Vila Roza, V., Bonzo, E., Mortola,E., Frossard, J.P. and Venables, C. (2008). Evidence of bovine immunodeficiency virus (BIV) infection: Serological survey in Argentina. Research in Veterinary Science, 85:353-358.
- Gradil, C.M., Watson, R.E., Renshaw, Gibert, R.O. and Dubovi, E.J. (1999). Detection of Bovine Immunodeficiency Virus DNA in the blood and serum of experimentally infected bulls. Veterinary Microbiology, 70:21-23.
- Hirai, N., Furuyama, H., Awaya, A. and Onuma, M. (1995). Effect of administration of serum thymic factor (FTS) in calves and rabbits infected with bovine immunodeficiency-like virus. Journal of Veterinary Medical Science, 57:307-310.
- Horzinek, M., Keldermans, L., Stuurman T., Black J., Herrewegh A., Sillekens P. and Koolen M. (1991). Bovine immunodeficiency virus: immunochemical characterization and serological survey. Journal of General Virology, 72:2923-2928.
- Isaacson, J.A., Flaming, K.P. and Roth, J.A. (1998). Effects of long - term infection with Bovine immunodeficiency virus and/or bovine leukemia virus on antibody and lymphocyte proliferative responses in cattle. Veterinary Immunology and Immunopathology, 64:249-266.
- Kolotvin, V.V., Grinenko, N.F., Piskareva, L.M., Pashvykina, G.V., Shaikhaev, G.O., Al'tshtin A.D. and Valikhov, F. (2007). Distribution of Bovine Immunodeficiency Virus in Herdsof Moscow Region and Stavropol Krai. Russian Agriculture Sciences, 1:54-56.

- Lew, A.E., Back, R.E., Miles, J., Cuttell, L.B., Steer, P. and Nadin-Davis, S.A. (2004). Sensitive and specific detection of Bovine immunodeficiency virus and syncytial virus by 5 Taq nuclease assays with fluorescent 3 minor groove binder - DNA probs. Journal of Virological Methods, 116:1-9.
- Meas, S., Nakayama, M., Usui, T., Nakazato, Y., Yasuda, J., Ohashi, K. and Onuma, M. (2004). Evidence for Bovine immunodeficiency virus infection in cattle in Zambia. Japanese Journal of Veterinary Research, 52:3-8.
- Meas, S., Ohashi, K., Sugimoto, C. and Onuma, M. (2001). Phylogenetic relationships of bovine immunodeficiency virus in cattle and buffaloes based on surface envelope gene sequences. Archive of Virology, 146:1037-1045.
- Meas, S., Ohashi, K., Tum, S., Chhin, M., Te, K., Miura, K., Sugimuto, C. and Onuma, M. (2000a). Seroprevalence of Bovine immunodeficiency virus and Bovine leukemia virus in draught animals in Combodia. Journal of Veterinary Medical Science, 62:779-781.
- Meas, S., Seto, J., Sugimoto, C., Bakhsh, M., Riaz, M., Sato, T., Naeem, K., Ohashi, K. and Onuma, M. (2000b). Infection of Bovine Immunodeficiency virus and bovine leukemia virus in water buffalo and cattle populations in Pakistan. Journal of Veterinary Medical Science, 62:329-331.
- Meas, S., Ruas, J., Farias, N.A., Usui, T., Teraoka, Y., Mulenga, A., Chang, K. S., Masuda, A., Madruga, C.R., Ohashi, K. and Ouma, M. (2002a). Seroprevalence and molecular evidence for the presence of bovine immunodeficiency virus in Brazilian cattle. Japanese Journal of Veterinary Research, 50:9-16.
- Meas, S., Usui, T., Ohashi, K., Sugimoto, C. and Onuma, M. (2002b). Vertical transmission of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiency virus in dairy cattle herds. Veterinary Microbiology, 84:275-282.
- Meas, S., Yilmaz, Z., Usui, T., Torun, S., Yesilbag, K., Ohashi, K. and Onuma, M. (2003). Evidance of bovine immunodeficiency virus in cattle in Turkey. Japanese Journal of Veterinary Research, 51:3-8.
- Munro, R., Lysons, R., Venables, C., Horigan, M., Jeffery, M. and Dawson, M. (1998). Lymphadenopathy and non-suppurative meningo-encephelitis in calves experimentally infected with bovine immunodeficiency-like virus (FL112). Journal of Comparative Pathology, 119:121-34.
- Nadin-Davis, S.A., Chang, S.C., Smith, H. and Jacobs, R.M. (1993). Detection of bovine immunodeficiency-like virus by the polymerase chain reaction. Journal of Virological Methods, 42:323-336.
- Nash J.W., Hanson L.A. and Coats K. (1995). Bovine immunodeficiency virus in stud bull semen. American Journal of Veterinary Research, 65(6):760-763.
- Nikbakht Brujeni, G.h., Poorbazargani, T.T., Nadin-Davis, S., Tolouei, M. and Barjesteh, N. (2009). Bovine mmunodeficiency virus and bovine leukemia virus and their mixed infection in Iranian Holstein cattle. Journal of Infection in Developing Countries, 4(9):576-579.
- Orr, K.A., O'Reilly, K.L. and Scholl, D.T. (2003). Estimation of sensitivity and specificity of two diagnostics tests for bovine immunodeficiency virus using Bayesian techniques. Veterinary Medicine, 61:79-89.
- Patill, S.S., Pattna, K.B., Mishra, N., Banumathi, N., Dubey, R. and Pradhan, H.K. (2003). Detection of proviral genomic sequence of Bovine Immunodeficiency Virus in Indian cattle. Current Science, 84:563-566.
- Polack, B., Schwartz, I., Berthelemy, M., Belloc, C., Manet, G., Vuillaume, A., Baron, T., Gonda, M.A. and Levy, D. (1996). Serologic evidence for Bovine immunodeficiency virus infection in France. Veterinary Microbiology, 48:165-173.
- Radostitis, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.H. and Constable, P.D. (2007). Veterinary medicine. 10th Edition, Saunders Elsevier, London, UK, pp. 1046-1058, 1221-1223.
- Scholl, D.T., Truax, R.E., Baptista, J.M., Ingawa, K., Orr, K.A., O'Reilly, K.L. and Jenny, B.F. (2000). Natural transplacental infection of dairy calves with bovine immunodeficiency virus and estimation of effect on neonatal health. Preventive Veterinary Medicine, 43:239-252.
- Snider, T.G., Hoyt, P.G., Coats, K.S., Graves, K.F., Cooper, C.R., Storts, R.W., Luther, D.G. and Jenny, B.F. (2003a). Natural bovine lentiviral type 1 infection in Holestein dairy cattle. Clinical, serological and pathological observation. Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases, 26:89-101.
- Snider, T.G., Coats, K.S., Storts, R.W., Graves, K.F., Cooper, C.R., Hoyt, P.G., Luther, D.G. and Jenny, B.F. (2003b). Natural bovine lentivirus type 1 infection in Holstein dairy cattle. II. Lymphoid tissue lesions. Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases, 26:1-15.
- Snider, T.G., Luther, D.G., Jenny, B.F., Hoyt, P.G., Battles, J.K., Ennis, W.H., Balady, J., Blas - Machado, U., Lemerchand, T.X. and Gonda, M.A. (1996). Encephalatitis, Lymphoid tissue depletion and secondary diseases associated with Bovine immunodeficiency Virus in a dairy herd. Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases, 19:117-131.

- Surarez, D.L., Van Der Maaten, M.J., Wood, C. and Whetstone, C.A. (1993). Isolation and characterization of new wild – type isolates of bovine lentivirus. Journal of Virology, 67:5051-5055.
- St. Cyr, C., Stephen, K., Pruett, B., Jerry, W. N. and Carlton, R.C. (1994). Bovine immunodeficiency virus: incidence of infection in Mississippi dairy cattle. Veterinary Microbiology, 42:181-189.
- Tagipour Bazargani, T.T., Tolouei, M., Nikbakht Brojeni, G.R., Garagozlo, M.J., Bokaei, S., Khormali, M. and Barjaste, N. (2010). The first survey on the status of the Bovine Immunodeficiency Virus infection and associated clinical, pathological, haematological and flow cytometrical findings in Holstein cattle in Iran. Journal of Veterinary Researches, 65(1): 1-11[In Farsi].
- تقی پور بازرگانی، ت.ت.، طلوعی، م.، نیکبخت بروجنی، غ.ر.، قره گوزلو، م.ج.، بکائی، س.، خرمالی، م. و برجسته، ن. (١٣٨٩). اولین بررسی بالینی وضعیت آلودگی به ویروس کمبود ایمنی گاو و یافته‌های پاتولوژیک، هماتولوژیک و فلوسایتومتریک در گاوهای هلشتاین ایران. مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ٦٥، شماره ١، صفحات ١١-١.
- Tajbakhsh, E. Nikbakht Borujeni, Gh., Momtazan, H. and Amirmozafari, N. (2010). Molecular prevalence for Bovine immunodeficiency virus infection in Iranian cattle population. African Journal of Microbiological Research, 4(12):1199-1202.
- Tolouei, M., Nikbakht Brojeni, G.R., Siofi, B., Ashrafi, J. and Jafari Jozani, R. (2010). A study on the Bovine Immunodeficiency Virus infection by using the PCR method and assocciated clinical, heamatological and histopatological changes in dairy farms in Tabriz. University of Tabriz, Iran Patent D.27.1102: 5-7 [In Farsi].
- طلوعی، م.، نیکبخت بروجنی، غ.، سیوفی، ب.، اشرفی، ج. و جعفری جوزانی، ر. (١٣٨٩). مطالعه‌ی وضعیت آلودگی به ویروس کمبود ایمنی گاو به روش واکنش زنجیره‌ای پلی مراز و تغییرات بالینی، هماتولوژیک و هیستوپاتولوژیک همراه در گاوداری‌های شیری اطراف تبریز. گزارش نهائی طرح تحقیقاتی مصوب شماره ٢٧/١١٠٢/د دانشگاه تبریز، صفحات ٧-٥.
- Usui, T., Meas, S., Konnai, S., Ohashi, K. and Onuma, M. (2003). Seroprevalence of Bovine immunodeficiency virus and Bovine leukemia virus in Dairy and Beef cattle in Hokkaido. Journal of Veterinary Medical Science, 65:287-289.
- Vandermaaten M.J., Boothe A.D. and Seger C.L. (1972). Isolation of a virus from cattle with persistent lymphocytosis. Journal of the National Cancer Institute, 49:1649-1657.
- Walder, R., Kalvatchev, Z., Perez, F., Garzaro, D. and Barrios, M. (2001). Bovine immunodeficiency virus infection in experimentally infected rabbit: tropism for lymphoid and nonlymphoid tissues. Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases, 24:1-20.