

مجله دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، دوره ۴۶ (شماره ۱) تهران (۱۳۷۰)

جستجوی سرولوژیکی پادتن ضد لوکوز آنزوتیک گاوی (BLV) در گوسفند

دکتر فریدون نورمحمدزاده\*، دکتر مهدی تقوا\*\*\*، دکتر عباس برین\*\*، دکتر ایرج نوروزیان\*

خلاصه:

جهت جستجوی پادتن ضد ویروس لوکوز آنزوتیک گاو در خون گوسفند از ۲۵۸ راس گوسفند نژاد شال موسسه تحقیقاتی امین آباد که در سنین مختلف بودند خونگیری بعمل آمد. از این تعداد نمونه به علت کمبود آنتی ژن ۱۲۳ نمونه سرم بروش آگار ژل ایمنو دیفوژن (AGID) مورد آزمایش قرار گرفتند. از مجموع نمونه های سرم مورد آزمایش ۱۵ نمونه دارای پادتن ضد ویروس لوکوز آنزوتیک گاو بودند. به عبارت دیگر در این بررسی ۱۲/۹٪ از گوسفندان مزبور از نظر سرمی مثبت تشخیص داده شدند. بین درصد آلودگی و سن گوسفندان مزبور ارتباط معنی داری دیده شد، یعنی با افزایش سن تعداد سرم مثبت ها افزایش قابل ملاحظه ای را نشان دادند و کمترین درصد سرم مثبت ها به گوسفندان زیر دو سال (صفر درصد) و بیشترین درصد سرم مثبت ها به گوسفندان بالای ۸ سال (۶۶/۶۶٪) تعلق داشت. بین جنس گوسفندان مورد بررسی و تعداد نمونه های مثبت هیچگونه رابطه معنی داری مشاهده نگردید.

مقدمه:

لوکوزیا لنفوسارکوم یک بیماری نئوپلاستیک بدخیم سلولهای لنفوئیدی است که می تواند در سلسله حیوانات از نرم تنان مانند صدف تا گاو و اتفاق افتد (۵). سرطان بافت های لنفوئیدی در گاو با سامی گوناگون مانند لوکوز، لنفوسارکوم لنفوما ی بدخیم و لوسمی شناخته شده است (۶). بیماری مزبور در اثر ویروس لوسموژن گاوی Bovine Leukemia Virus

\* گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران.

\*\* گروه آموزشی پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران.

\*\*\* دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران.

ایجاد می‌گردد (۷) و بصورت رشد غیرطبیعی لنفوسیت‌های سرطانی شده که اغلب اعضای بدن را دربرمی‌گیرد اتفاق می‌افتد و علائم درمانگاهی بسیار متفاوت از قبیل بزرگ شدن عقده لنفاوی سراسر بدن بچشم می‌خورد، یک شکل از آن لنفوسیتوز بادوام می‌باشد (۷۱). طبق مطالعاتی که در فرانسه شده است  $\frac{2}{3}$  از لنفوسارکوم‌های گاو مربوط به BLV بوده و شکل‌های دیگر شامل لوکوزانفرادی از قبیل اشکال جلدی، تیموسی و گوساله‌ای می‌باشند (۷). عامل ایجاد لوکوز آنزوتیک گاو می‌باشد که شایعترین شکل سرطان در گاوهای شیری است (۳). بیماری برای اولین مرتبه در سال ۱۹۵۵ میلادی در اروپای شرقی گزارش شد (۶). چگونگی پیدایش تومور از سال ۱۹۱۲ مورد توجه قرار گرفت ولی تا سال ۱۹۶۹ هنوز عامل بیماری نامشخص بود و تنها آنرا به عنوان یک بیماری عفونی می‌شناختند ولی در سال ۱۹۶۹ ویروس عامل بیماری شناسائی گردید که امروزه آنرا با سامی EBLV<sup>۱</sup> و BLV<sup>۲</sup> می‌نامند (۷).

لوکوز آنزوتیک گاو سالهاست که توسط افرادی مانند پالسن (۱۹۷۱)، بندیکسن (۱۹۵۹) در اروپا شناخته و مطالعه شده است. در گوسفندان نئوپلازی اغلب نادر می‌باشد و متداولترین آن لنفوسارکوم می‌باشد که بیشتر در بازرسی لاشه دام‌های کشتار شده مشخص می‌گردد. در سال ۱۹۶۷ برای اولین مرتبه در آفریقای جنوبی لنفوسارکوم در گوسفند گزارش گردید و در سال ۱۹۷۳ بوستوک و اول تابلوئی از درصد شیوع سارکومای تشخیص داده شده در بررسی‌های کشتارگاهی ۸ کشتارگاه ارائه دادند که این تابلواز ۳/۲ در میلیون در بلژیک تا ۱۴۵۵ در میلیون در مناطقی خاص در فرانسه متغیر بوده است. جارت و همکاران فراوانی در حدود ۱۲۵ در میلیون در بریتانیای کبیر گزارش نموده‌اند و جکسون در سال ۱۹۳۶ با بیش از ۳۹ نمونه از تومور گوسفندی در آفریقای جنوبی برخورد داشته است که فقط ۴ مورد آن لنفوسارکوم تشخیص داده شده است. بعقیده<sup>۶</sup> لومبارد (۱۹۶۸) موارد تک گیر و انفرادی لنفوسارکوم گوسفندی در کل جهان اتفاق می‌افتد، در حالیکه در بعضی از نواحی خاص فرانسه گله‌هایی با شیوع فراوان و واگیری بسیار بالا گزارش گردیده است ولی در آفریقای جنوبی تنها به موارد انفرادی و تک‌گیر بیماری برخورد شده است (۲).

1- Enzootic Bovine Leukovirus

2- Bovine Leukovirus

هدف از بررسی انجام شده بر روی گوسفندان که برای اولین بار در ایران انجام پذیرفته است اولاً "اطلاع از آلودگی گوسفندان به BLV بوده و ثانیاً "در صورت آلودگی مشخص نمودن درصد آلودگی دامهای مزبور به ویروس می باشد .

### مواد و روش کار .

(۱) از ۲۵۸ راس گوسفند نژاد شال که در سنین مختلف در موسسه تحقیقاتی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران در امین آباد تهران نگهداری می شدند خونگیری بعمل آمد و خونهای اخذ شده از ورید گردنی به آزمایشگاه منتقل و بعد از ۲۴ ساعت بوسیله سانتریفوژ با ۲۰۰۰ دور در دقیقه سرم آنها جدا گردید . از این تعداد نمونه به دلیل کمبود آنتی ژن ۱۲۳ نمونه سرم به روش آگار ژل ایمنودیفوژن مورد آزمایش قرار گرفتند .

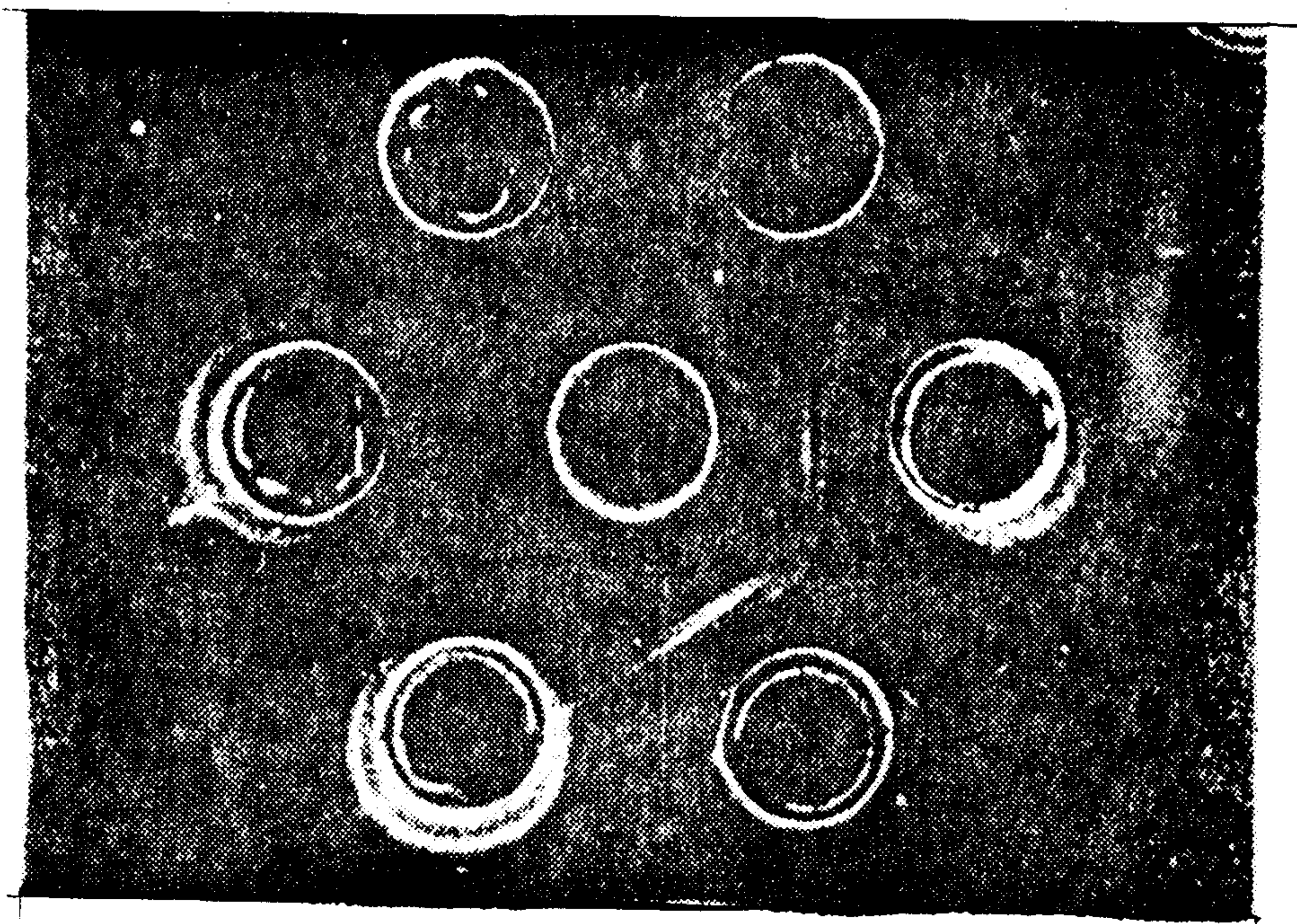
(۲) آنتی ژن مورد استفاده از جنس پروتئین  $(P^{24})$  و گلیکوپروتئین  $(gp^{51})$  استخراج شده از ویروس لوکوز آنزوتیک گاوان بوده که توسط محققین ژاپنی تهیه و مورد استفاده قرار می گرفت . آنتی ژن فوق و همچنین آنتی سرم اختصاصی آن توسط محققین ژاپنی برای آزمایشگاه ویروس شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ارسال شده بود .

(۳) آزمایش رسوبی . این آزمایش به روش میکروژل ایمنودیفوژن انجام گرفت زیرا از نظر حساسیت و پاسخ تفاوتی بین انجام آزمایش از طریق میکروژل ایمنودیفوژن و ماکروژل ایمنودیفوژن وجود ندارد (۹) . برای انجام آزمایش از محلول ۰/۸ % آگاروز در محلول ۸/۵ % کلورسدیم به مقدار ۲۵ میلی لیتر در هر بوت استفاده گردید .

بوت ها بمدت ۲۴ ساعت در ۴ درجه سانتی گراد قرار داده شده و سپس برای انجام آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند . در هر مجموعه ۶ هفت تایی گوده های تعبیه شده در آگاروز به ترتیب زیر عمل شد . در گوده ۶ وسط آنتی ژن در دو گوده ۶ مقابل هم آنتی سرم اختصاصی و در ۴ گوده ۶ باقیمانده سرم های مشکوک با استفاده از پی پت پاستور مخصوص هر کدام به مقدار ۵۰ میکرولیتر ریخته شده و ۲۴ ساعت در حرارت آزمایشگاه نگهداری و سپس نتیجه آزمایش قرائت گردید . مثبت بودن نتیجه ۶ آزمایش در این بررسی با مشاهده ۶ اتصال کامل خط رسوبی حاصل از آنتی ژن و آنتی سرم اختصاصی و خط رسوبی حاصل از آنتی ژن و سرم مشکوک مورد آزمایش تأیید شد (تصویر ۱) .



ارزش های عددی حاصله از این بررسی با توجه به پارامترهای سن و جنس با استفاده از آزمون مربع کای (Chi - Square) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند .



تصویر (۱) - نمایش تست آگارژل ایمنو دیفوژن به روش ماکرو . خطوط رسوبی در این تصویر کاملا " مشخص است (۴) .

#### نتیجه:

از مجموع ۱۲۳ نمونه سرم که از موسسه تحقیقاتی دانشکده دامپزشکی در منطقه آمین آباد مورد آزمایش آگارژل ایمنو دیفوژن قرار گرفت ، ۱۵ نمونه دارای پادتن ضد ویروس لوکوز آنزوتیک گاو بودند (تابلو ۱) . یا به عبارت دیگر در این بررسی ۱۲/۹٪ از گوسفندان از نظر سرمی مثبت تشخیص داده شدند . آزمون مربع کای بین درصد آلودگی و سن گوسفندان مورد مطالعه ارتباط معنی داری را نشان داد ، بطوریکه با افزایش سن تعداد سرم مثبتها افزایش چشمگیری داشته اند . در همین راستا کمترین درصد آلودگی به گوسفندان زیر دو سال (صفر درصد) و بیشترین درصد آلودگی در گوسفندان بالای ۸ سال (۶۶/۶۶٪) خود نمائی می نماید (تابلوی ۲ و نمودار ۱) . اگرچه ۱۸/۱۸٪ موارد مثبت متعلق به جنس

تابلو (۱) - توزیع نتایج تست سرمی BLV در گوسفند بر حسب سن و جنس.

جمع	تست سرمی		جنس	سن (سال)
	-	+		
۵	۵	۰	نر	< ۲
۴۱	۴۱	۰	ماده	
۳	۳	۰	نر	۲-۴
۴۳	۴۰	۳	ماده	
۳	۱	۲	نر	۴-۶
۱۳	۱۰	۳	ماده	
۰	۰	۰	نر	۶-۸
۹	۶	۳	ماده	
۰	۰	۰	نر	> ۸
۶	۲	۴	ماده	
۱۱	۹	۲	نر	
۱۱۲	۹۹	۱۳	ماده	جمع جنس
۱۲۳	۱۰۸	۱۵		جمع

نرو ۱۱/۶ درصد آن مربوط به جنس ماده می باشند ولی آزمون مربع کای هیچگونه ارتباط معنی داری را بین جنس گوسفندان مورد بررسی و تعداد نمونه های مثبت نشان نمی دهد (تابلوی ۳).

## بحث:

با توجه به نتایج بدست آمده در این بررسی و با در نظر گرفتن آن به عنوان اولین تحقیق در این زمینه در ایران و با مقایسه آن با نتایج بدست آمده از بررسی های دیگر محققین در دنیا می توان بیان داشت که بیماری لوکوز آنزوتیک گاو یکی از بیماریهای مهمی است که هنوز مسائل مبهم و ناشناخته بسیار با خود به همراه دارد و هرچند سال یکبار سمپوزیومهای بین المللی برای شناخت بیشتر این مشکل و دستیابی به راه حل های آن در جهان تشکیل می گردد (۹، ۸، ۱). به علت خسارات نامشخص بیماری از جمله کاهش وزن و تولید و از همه مهمتر عدم درمان مبتلایان، نیاز به یک برنامه کنترل و ریشه کنی همه جانبه احساس می شود که نیل به چنین هدفی بدون شناسایی راههای انتقال عامل بیماری و حیوانات حساس در مقابل آن غیر ممکن می باشد.

تابلو (۲) - توزیع نتایج تست سرمی BLV در گوسفند بر حسب سن

سن (سال)	تست سرمی BLV		جمع	%
	+	-		
< ۲	۵	۴۶	۴۶	۵
۲-۴	۳	۴۳	۴۶	۶/۵۲
۴-۶	۵	۱۱	۱۶	۳۱/۲۵
۶-۸	۳	۶	۹	۳۳/۳۳
> ۸	۴	۲	۶	۶۶/۶۶
جمع	۱۵	۱۰۸	۱۲۳	-

$$x^2 = ۳۳/۷۱ > x^2 = ۷/۸۱۵$$

۳ و ۰/۹۵



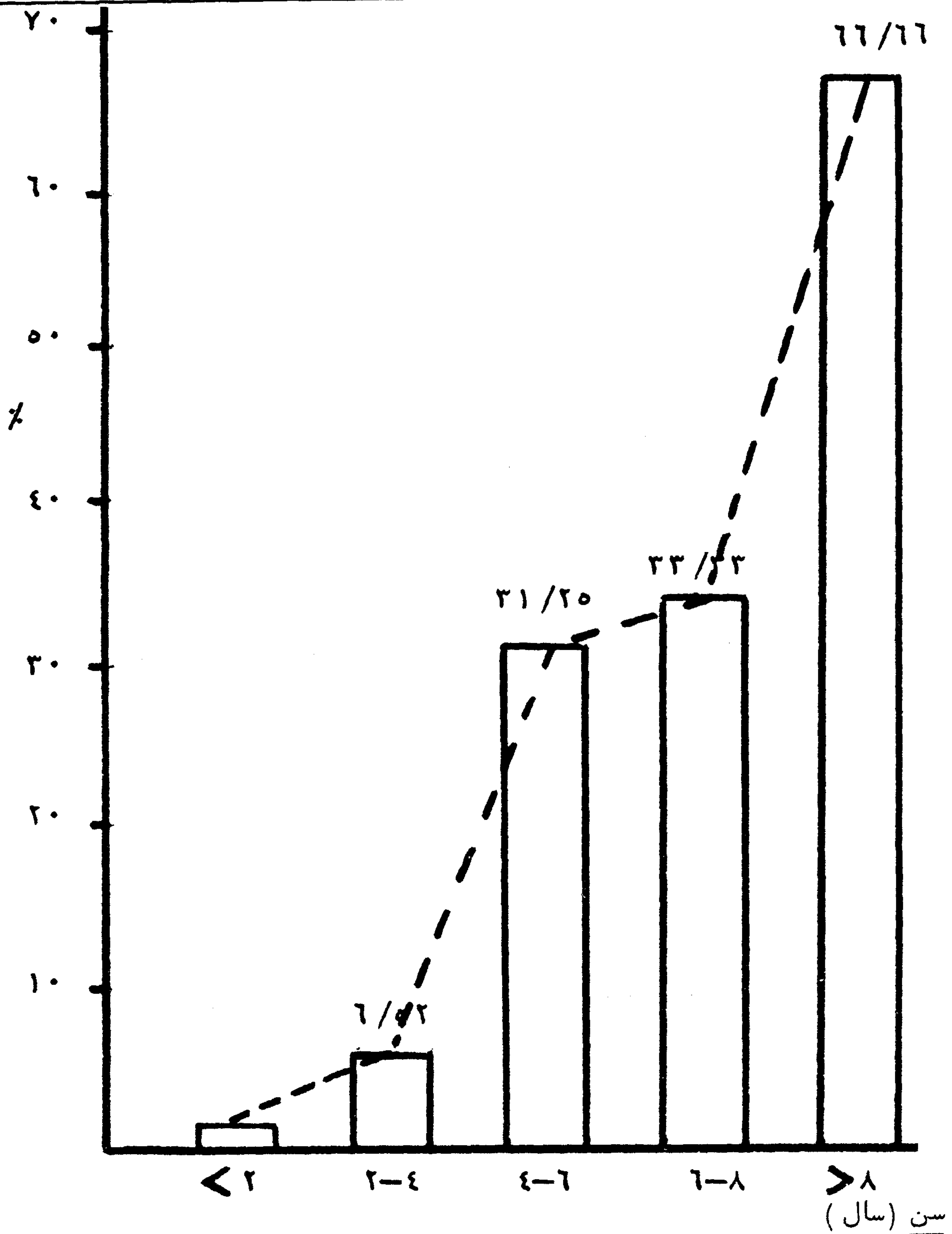
با وجود اینکه تاکنون انتقال بیماری در شرایط طبیعی از گوسفند به گاو گزارش نشده است ولی بدلیل وجود گزارشاتی مبنی بر آلودگی طبیعی و تجربی در گوسفند و تنوع راههای انتقال عامل بیماری از جمله وسایل جراحی غیر استریل، سوزنهای واکسیناسیون غیر استریل، سوزنهای پونکسیون، انتقال خون، حشرات خونخوار، شیر و ترشحات دام آلوده و از راههایی مانند مخاط بینی و ملتحمه باید باین نکته توجه داشت که عفونت غیر درمانگاهی در گوسفندان می تواند در انتقال بیماری نقش بسزایی داشته باشد و از آنجائیکه تاکنون هیچ گونه بررسی روی این موضوع صورت نگرفته است حتی المقدور با در اختیار قرار دادن امکانات لازم و انجام تحقیقات گسترده درصد آلودگی در گله های مختلف گوسفند مشخص شود. همچنین ارتباط آن با درصد آلودگی در گاو و تاثیر نگهداری همجوار این دو گونه حیوانی در این درصد آلودگی باید کاملاً " مدنظر قرار گیرد .

تابلو (۳) - توزیع نتایج تست سرمی BLV در گوسفند بر حسب جنس

جنس	تست سرمی BLV		جمع	%
	+	-		
نر	۲	۹	۱۱	۱۸/۱۸
ماده	۱۳	۹۹	۱۱۲	۱۱/۶۰
جمع	۱۵	۱۰۸	۱۲۳	-

$$x^2 = 0/394 < x^2 = 3/841$$

$$100/95$$



نمودار (۱) - نمایش درصد تست سرمی مثبت درگوسفندان مورد بررسی و ارتباط آن با سن .



ضمناً باید متذکر شد که در این بررسی از آنتی ژن BLV استفاده شده است. با توجه به اینکه گوسفند بطور تجربی و طبیعی به BLV مبتلا میگردد (۱) و هم چنین با توجه به اینکه BLV و OLV تشابه آنتی ژنی دارند، خطوط رسوبی حاصل ممکنست در اثر آنتی بادیهای ضد OLV ایجاد شده باشد که با آنتی ژن BLV واکنش میدهد. برای تفکیک دقیق آنتی بادیهای ضد BLV از OLV آزمایشهای حساس تر و آنتی ژنهای اختصاصی تری باید مورد استفاده قرار گیرد.

Serological investigation of enzootic bovine leukaemia virus antibody in sheep.

Nourmohamadzadeh, F\* ; Taghva, M\*\*\* ; Barin\*\* A ;  
NOWrouzian\*, I

Summary:

258 sheep of Iranian native breed (Shall) from different sexes and ages were allotted in a study to determine Enzootic Bovine Leukaemia virus antibody . Blood samples were obtained from the jugular vein of each sheep and Micro Agar Gell Immuno - Diffusion (AGID ) method was used. The antigen was glycoprotein (gp) of EBL virus (Kono, Japan). 123 serum samples were omitted from the study because of antigen shortage. 15 samples showed positive reaction to the antigen (% 12.9). The chi-square test revealed a significant association between age and percentage of infection . Sheep older than 8 years of age showed greater percentage of positive response (66.66%). No significant difference between sexes were determined.

-----  
\* Department of clinical sciences, Faculty of Veterinary  
Medicine Tehran University, PO.Box 14155-6453, IRAN.

\*\*Department of Pathobiology, Faculty Of Veterinary  
Medicine, Tehran University ,PO.Box 14155-6453, IRAN.

\*\*\*Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine,  
Tehran University, PO Box 14155-6453, IRAN

۱- حدادزاده حمیدرضا . فراوانی آلودگی به ویروس لوکوز آنزوتیک گاوها در گاوداری های اطراف تهران . پایان نامه برای دریافت دکتری دامپزشکی از دانشگاه تهران - شماره ۱۵۸۷ - سال تحصیلی ۶۵ - ۱۳۶۴ .

## References:

- 2- Blood D.S., Rodostits O.M., 1989: Veterinary Medicine 7th ed. Bailliere Tindall.London, PP: 816-820.
- Boyt W.P., Mackenzie P.K.I., Emslie V.W., 1976:Enzootic
- 3- leukosis in a flock of sheep in Rodesia. Vet Rec, 98,2: 112-125.
- 4- Evermann JE, 1983: Bovine Leukaemia virus infection. Modern Veterinary Practice, Vol. 64,2,PP: 103-105.
- Horvath,z ,1982 : Experimental transmission of bovine
- 5- leukosis to sheep .4<sup>th</sup> International Symposium on Bovine Leukosis ,PP: 269-270.
- Howard J.L., 1981: Current Veterinary Therapy,2, Food
- 6- Animal Practice, W.B. Saunders Company,Philadelphia, PP:640-649.
- Howard J.L., 1986: Current Veterinary Therapy,2, Fobd
- 7- Animal Practica, W.B. Saunders Company Philadelphia. PP: 506-508,741,937.
- 8- Parodi A.L., 1986: Enzootic Bovine Leukosis.Proveterinario 1, PP: 1-4.
- Sureya M, Onama M, Mikani T, Izawa H, 1982: Humoral
- 9- and cellular immune responses to bovine leukaemia viruse infection in sheep, 4<sup>th</sup> International Symposium on Bovine Leukosis ,PP:77-86.