JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره هشتم، شماره اول، ۱۳۹۱، پیاپی ۲۴: ۳۰-۲۳

جستجوی ویروس بلوتانگ در شترهای یک کوهانه‌ی کشتار شده در نجف‌آباد (مرکز ایران) با روش RT-PCR

محمدرضا محزونیه[۱و۲*]، مهدی سلیمی[۲و۳]، عارفه گلستان فر[۳]، سید محمدعلی حسینی نسب[۳]

۱- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- پژوهشکده بیماری‌های مشترک انسان و دام، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳- دانشجوی دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهر کرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۲ مرداد ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: ۲۶ مهر ۱۳۹۱

چکیده

بیماری زبان آبی یک بیماری ویروسی غیرواگیر در نشخوارکنندگان به ویژه گوسفند است که با فراوانی کمتر در گاو، بز، بوفالو، آهو، شتر و آنتلوپ‌ها دیده می‌شود. عمدتاً توسط حشرات منتقل می‌شود و باعث ضایعاتی در مخاط بینی، دهان و اندام‌های حرکتی می‌شود. همچنین گزارشاتی مبنی بر ایجاد سقط در برخی حیوانات وجود دارد. شتر یکی از حیواناتی است که مخزن این ویروس است ولی علائمی نشان نمی‌دهد. از این رو می‌تواند باعث انتشار عفونت در مناطق مختلف و حیوانات دیگر شود. هدف از این مطالعه، جستجوی ژنومی ویروس بلوتانگ در شترهای یک کوهانه‌ی کشتار شده در مرکز ایران بود. به منظور جستجوی توالی قطعه ژنومی S7 در ویروس زبان آبی، از تعداد ۱۱۰ شتر یک کوهانه‌ی کشتار شده در کشتار گاه نجف آباد نمونه‌ی خون، تهیه شد. جهت جلوگیری از انعقاد، به نمونه‌های خون هپارین اضافه شد و در یک محفظه در کنار یخ به آزمایشگاه ارسال گردید. با استفاده از روش اسید گوانیدیم- ایزوتیوسیانات و فنل-کلروفرم استخراج RNA انجام پذیرفت. سپس نمونه‌ها به روش RT-PCR مورد آزمون قرار گرفت. محصول PCR حاصل از آزمون، روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد برده شد و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید، توسط ژل داکیومنت قرائت گردید. نتایج آزمون نشان داد که کلیه نمونه‌ها منفی هستند که خوشبختانه می‌تواند گویای آن باشد که این عفونت در منطقه ی مورد بررسی از کشورمان وجود ندارد و یا متعاقب عفونت گذرا، ویرس بلوتانگ در خون شتر یک کوهانه پایداری طولانی مدت ندارد. با توجه به اینکه این بیماری در برخی استان‌های دیگر گزارش شده بهتر است مطالعات بیشتری در خصوص آلودگی شتر صورت پذیرد.

کلمات کلیدی: *شتر، ویروس بلوتانگ، نجف آباد، ایران*

* نویسنده مسئول: محمدرضا محزونیه

آدرس: گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، ایران. تلفن: ۰۳۸۱۴۴۲۴۴۲۷

پست الکترونیک: *mahzounieh@vet.sku.ac.ir*

مقدمه

بیماری بلوتانگ عفونتی غیرواگیر و از دسته بیماری‌های انتقال یافته توسط بندپایان بوده که عامل ایجاد بیماری، ویروس بلوتانگ از خانواده رئوویریده و از جنس *آربی ویروس* است. ویروس بلوتانگ دارای ۲۶ سروتیپ است که هشت سروتیپ آن بیماری زا و بقیه غیر بیماری‌زا هستند (۴).

ژنوم این جنس شامل ۱۰ قطعه‌ی RNA دو رشته‌ای می‌باشد، که در اطراف آن یک کپسید ۳ لایه از جنس پروتئین با قطر ۸۰ نانومتر قرار دارد، کپسید خارجی شامل دو پروتئین ساختاری VP2 و VP5 است که در اتصال و نفوذ ویروس به سلول‌های جانوری در آغاز روند عفونت زایی مؤثر است. واکنش اختصاصی آن‌ها به خصوص VP2 با آنتی بادی‌ها خنثی کننده، عامل تقسیم ویروس به سروتیپ‌های مختلف است (۲ و۵).

انتقال ویروس از طریق گزش ناقلی به نام *کولیکوئیدس* می‌باشد که در فصول گرم فعالیت بیشتری دارد. پس از تلقیح ویروس در ناحیه زیرپوستی، ویروس‌ها در عقده‌های لنفاوی نزدیک محل، همانند سازی می‌کنند و سپس در سایر ارگان‌ها تکثیر می‌شوند. سپس ویروس در خون آزاد شده و سلول‌های خونی را درگیر می‌کند. پیوستن ویروس به گلبول‌های قرمز روند وایرمی و عفونت ناقلین خونخوار را تسهیل می‌کند. عفونت بلوتانگ معمولا در گونه‌های حساس، باعث آسیب عروقی می‌شود که نتیجه‌ی آن ترومبوسیتوز و اینفارکشن بافتی است. در برخی گونه‌ها ادم وسیع خصوصاً ادم ریوی مشاهده شده است (۱۷ و ۱۸).

چنانچه حیوانی با یکی از سروتیپ‌ها درگیر شود تا مدت طولانی علیه آن سروتیپ آنتی بادی دارد ولی ایمنی در مقابل سروتیپ‌های دیگر به وجود نمی‌آید. کنترل با واکسیناسیون انجام می‌شود. واکسن‌ها به صورت واکسن غیرفعال یا زنده ضعیف شده می‌باشند. عفونت بلوتانگ ممکن است درگوشتخواران نیز رخ دهد (۱۲ و ۱۸).

از علائم بیماری می‌توان به تب و ترشحات موکوسی و چرکی بینی، التهاب ملتحمه، پرخونی و نکروز در مخاط بینی و دهان و گونه، لنگش، سیانوزه شدن و ادم زبان، تورم و ترک خوردن نوار تاجی سم اشاره کرد. اسهال به ندرت رخ می‌دهد. برای شناسائی بیماری می‌توان از ظاهر کلینیکی کمک گرفت. گرچه به فراوانی از روش‌های سرولوژی استفاده می‌شود ولی به دلیل واکنش‌های متقاطع، پایین بودن حساسیت و ویژگی روش مناسبی نیست. برای جداسازی بیشتر از خون، ریه و طحال استفاده می‌کنند. ویروس جدا شده به تخم مرغ جنین دار یا کشت سلول Vero و BHK21 یا سلول‌های حشره وکتور منتقل می‌شود ولی عموماً این روش‌ها غیر حساس‌اند. امروزه روش RT-PCR روشی استاندارد برای شناسایی ویروس است و برخلاف روش‌های سرولوژی که عفونت قبلی را نشان می‌دهد، می‌تواند حضور یا عدم حضور ویروس را مشخص کند (۱ و ۱۸).

بر اساس آمار منتشر شده توسط سازمان خواروبار جهانی (FAO) در سال ۲۰۰۸، تقریبا بیست و چهار میلیون نفر شتر در جهان وجود دارد که از این میزان ۱۵۲ هزار نفر شتر (حدود ۰/۶ درصد) در ایران وجود دارد (۳). از آنجایی که شتر رابطه‌ی نزدیکی با اجتماع انسانی به‌خصوص در کشورهای جهان سوم دارد، می‌تواند بساری از عوامل پاتوژن را به انسان انتقال دهد. در مطالعات منتشر شده، وجود پاتوژن‌های ویروسی مانند ویروس‌های BVD، طاعون نشخوار کنندگان کوچک، سروتیپ O بیماری FMD، هاری، تب دره‌ی

ریفت و نیل غربی را نیز در این حیوان ثابت شده است. اگر چه به طور کلی اسهال و بیماری‌های تنفسی از عمده‌ترین بیماری‌های شتر هستند (۳،۱۳ و ۲۰).

شترهای دنیای جدید نیز اخیراً به عنوان حیوانات حامل ویروس بلوتانگ مورد توجه قرار گرفتند. اعتقاد سنتی در مورد شترهای دنیای جدید بر این بود که این حیوانات در برابر عفونت بلوتانگ مقاوم هستند ولی آلودگی تجربی این حیوانات در اروپا، ضایعاتی شامل اختلالات تنفسی، ادم ریوی و هیدروتوراکس را در آنها نشان داد (۸).

بلوتانگ نخستین بار در بین نشخوارکنندگان آفریقای جنوبی شناسایی شد. متعاقبا همه‌گیری در اواسط قرن بیستم در کشورهای حوزه مدیترانه، ایالات متحده آمریکا، آسیا و خاورمیانه اتفاق افتاد. عفونت هم اکنون در تمام کشورهای جهان به جز قطب جنوب وجود دارد و ویروس در اغلب مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری دیده شده است. این بیماری در کشورمان از استان‌های کرمان، کردستان، آذربایجان شرقی، فارس، خوزستان، قم و ایلام گزارش شده است (۱۹,۱۶,۲و۲۱).

این ویروس از جمله ویروس‌هایی است که شتر را درگیر می‌کند و آزمایشات سرولوژیک در برخی نقاط وجود آنتی بادی‌های ضد این ویروس را در سرم این حیوان نشان داده است. لیکن Button و همکاران با ایجاد آلودگی تجربی در شتر به رغم تولید آنتی بادی در خون حیوانات، هیچ‌گونه علائمی از بیماری را مشاهده نکردند. از این رو، این موضوع به نقش احتمالی شتر به عنوان حامل ویروس در گسترش عامل بیماری در بین کشورها اشاره می‌کند. با عنایت به توجه دامداران و مراکز بهداشتی به پرورش این حیوان ارزشمند به ویژه در مناطق حاشیه کویر، لازم دیدیم مطالعه‌ای Cross-sectional طراحی و آلودگی به این ویروس را در مناطق مرکزی ایران بررسی کنیم. از طرف دیگر انتشار بیماری در اثر شیوع سروتیپ BTV8 در آسیا و سپس به شکل نوپدید در اروپا در چند سال اخیر موجب شد تا توجه به این ویروس بیشتر جلب شود (۶، ۷ و۸).

مواد و روش کار

نمونه‌های مورد استفاده در این مطالعه، خون تازه‌ی ۱۱۰ شتر کشتار شده در کشتارگاه نجف‌آباد بود که در سال ۱۳۹۰ جمع‌آوری و پس از سانتریفوژ در۱۲۰۰۰ دور در دقیقه، پلاسمای آن جدا و مورد استفاده قرار گرفت. شترها با محدوده‌ی سنی مختلف و توزیع فراوانی جنسی شامل ۵۷٪ نر و ۴۳٪ ماده بود که از این میزان ٪۵۳ شتران کشتار شده وارداتی و ۴۷٪ متعلق به کشور خودمان بودند. به منظور جلوگیری از انعقاد خون، هپارین اضافه گردید و در کنار یخ به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شهرکرد منتقل شد. استخراج اسید نوکلئیک ویروس با استفاده از روش اسید گوانیدیم- ایزوتیوسیانات و فنل کلروفرم به شرح زیر انجام شد.

تهیه‌ی محلول لیزکننده یا محلول D (Denaturation Solution): ۵۰ گرم گوانیدیم ایزوتیوسیانات با ۵۸/۶ میلی لیتر آب مقطر دوبار تقطیر مخلوط گردید. به محلول فوق ۳/۵۲ میلی لیتر سدیم سیترات ۰/۷۵ مولار با pH معادل ۷ اضافه شد. در مرحله‌ی بعد ۵/۲۸ میلی لیتر سارکوزیل ۱۰٪ و در نهایت به کل مجموعه، ۰/۳۶ میلی لیتر بتا- مرکاپتواتانول اضافه گردید.

استخراج RNA: ۲۰۰ میکرولیتر از هر نمونه خون با ۲۰۰ میکرولیتر از محلول D مخلوط شد و به مدت ۱۵

ثانیه ورتکس گردید. سپس ۱۵۰ میکرولیتر اسید فنول با pH برابر ۵ اضافه شد. کلروفرم ایزوامیل الکل (۴۹:۱) در حجم ۱۵۰ میکرولیتر اضافه شد. در ادامه ۵۰ میکرولیتر سدیم استات ۳ مولار با pH برابر۴/۲ اضافه شد، به مدت ۱۵ ثانیه ورتکس و در۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس ۳۵۰ میکرولیتر از مایع رویی به میکروتیوپ جدیدی منقل شد و به آن ۳۵۰ میکرولیتر ایزوپروپیل الکل با دمای ۲۰°c- اضافه شد. به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس و در دمای ۴۰°c- به مدت یک ساعت نگه داشته شد. پس از طی شدن مدت زمان مذکور نمونه‌ها در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. پس از این مرحله پلیت‌های سفید رنگی در ته میکروتویوب‌ها مشاهده شد. به آرامی مایع رویی را خارج و ۱۵۰ میکرولیتر اتانول ۷۰٪ اضافه گردید. در ادامه، به مدت ۳ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. در مرحله‌ی آخر اتانول رویی را به آرامی خارج کرده و در دمای اتاق قرار گرفت تا پلت‌ها خشک شوند. سپس به پلت RNA، ۲۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه گردید.

پرایمرهای اختصاصی در این آزمایش که برای ساخت قطعه‌ای به اندازه ۱۱۵۶ pb از قطعه‌ی هفتم ژنوم ویروسی توسط Antony و همکاران (۲۰۰۷) طراحی و استفاده شده بود، برای ساخت cDNA و نیز انجام PCR مورد استفاده قرار گرفت که خصوصیات آن در جدول شماره‌ی ۱ آورده شده است. مزیّت این پرایمرها این است که قادر به شناسایی همه‌ی سروتیپ‌های ویروس بلوتانگ در یک آزمایش به روش مالتی پلکس PCR است (۴).

ساخت cDNA با روش رونوشت برداری معکوس: پس از استخراج RNA، cDNA در حجم ۱۷ میکرولیتر (۴ میکرولیتر بافر PCR 5X، نیم میکرولیتر RNase inhibitor، ۲میکرولیتر dNTP mix ۱۰ میلی مولار، ۱ میکرولیتر آنزیم M Mulv (۲۰۰/Lμ)، هر کدام از پرایمرهای اختصاصی ۱ میکرولیترو (۱۰۰pmol/μl)، ۸/۵ میکرولیتر RNA الگو) ساخته شد. سیکل دمایی برای ساخت cDNA به صورت: ۴۲°C برای ۶۰ دقیقه، ۷۰°C برای ۱۰ دقیقه و در نهایت در ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد ذخیره گردید.

واکنش تکثیری: در مرحله بعد cDNA ویروس به روش PCR و با استفاده از مواد تهیه شده از شرکت سیناژن در حجم ۲۵ میکرولیتر (۲/۵ میکرو لیتر بافر PCR 10X، ۱ میکرولیترdNTP mix ۱۰ میلی مولار، ۲/۵ واحد آنزیم Taq پلیمراز ، ۲ میکرولیترcDNA الگو، ۱/۵ میکرولیتر $MgCl_2$ ۵۰ میلی مولار، هر یک از پرایمرها ۱ میکرولیتر (۱۰pmol/μl)، آب مقطر ۱۳/۵ میکرولیتر) تهیه شد. برنامه‌ی دمایی PCR به ترتیب ۹۴°C به مدت ۱ دقیقه، ۴۵°C برای ۱ دقیقه، ۷۲°C برای ۲ دقیقه بود. این سیکل ۴۰ بار در دستگاه ترموسایکلر (Applied Biosystem, USA) تکرار شد. پس از قرارگرفتن محصول PCR در ژل آگاروز ۱/۵٪ (سینا ژن- ایران) الکتروفورز (ساخت پایاپژوهش پارس- ایران) گردید. کنترل مثبت از ژنوم ویروس بلوتانگ از کلکسیون آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد و کنترل منفی آب مقطر استفاده شد.

جدول شماره ۱: پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

Primer designation	Sequence 5'→3'	Product size (base pairs)	Ref.
BTV\S7\ 01	GTTAAAAATCTATAGAGATG	۱۱۵۶	۴
BTV\S7\ 02	GTAAGTGTAATCTAAGAGA	۱۱۵۶	
BTV\S7\ 03	GTTAAAAAATCGTTCAAGATG	۱۱۵۶	۴
BTV\S7\ 04	GTAAGTTTAAATCGCAAGACG	۱۱۵۶	

نتایج

در پی الکتروفورز محصولات PCR، باند اختصاصی ۱۱۵۶ bp در هیچ یک از نمونه‌های خون شتران مورد آزمایش به جز کنترل مثبت مشاهده نشد. نمونه متعلق به کنترل منفی هم باند مورد انتظار را نشان نداد. لذا در تحقیق حاضر ژنوم ویروس در خون هیچ یک از شترهای کشتار شده در نجف‌آباد یافت نشد.

اگر چه آزمایشات سرولوژیک قبلی وجود آنتی-بادی‌های ضد این ویروس را در خون شترهای دنیای قدیم در کشورمان نشان داده است. لیکن نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که در سطح آزمایش شده عفونت پایداری که حیوان به حالت حامل در آید وجود ندارد.

بحث و نتیجه‌گیری

بیماری زبان آبی از نشخوارکنندگان در نقاط مختلف جهان و ایران گزارش شده است و این گزارشات در چند سال اخیر با توجه به شیوع سروتیپ ۸ اهمیت بیش از پیش‌یافته است. لیکن اطلاعات مربوط به آلودگی شتر محدود است. علی‌رغم باور عمومی که شتر را حیوانی مقاوم به بیماری می‌دانند این حیوان به اکثر بیماری‌های انگلی، باکتریایی و ویروسی آلوده می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که شترهای دنیای قدیم نیز همچون نشخوارکنندگان وحشی در اروپا، مخزنی برای ویروس بلوتانگ هستند ولی علائمی را نشان نمی‌دهند. میزان آلودگی این حیوانات بر اساس یافته‌های سرولوژی ۴/۹٪ و ۲۵/۷٪ برای کشورهای سودان و عربستان سعودی است. نتایج مطالعه روی ۶۶۰ شتر در سومالی نشان داد که ۱۳/۶۴٪ حیوانات نر و ۱۴/۲۱٪ حیوانات ماده آنتی بادی‌های BTV را در خون خود حمل می‌کنند (۷، ۸، ۱۱، ۱۴ و ۲۲).

در مطالعه‌ای که روی ۱۷۴۲ شتر دنیای جدید در آلمان صورت گرفت، آنتی بادی‌های ضد BTV8 در سرم ۲۴۹ نفر (۱۴/۳٪) متعلق به ۴۳ گله‌ی مختلف مثبت بود، ولی ژنوم ویروس در خون هیچ یک از آن‌ها یافت نشد که این خود گویای آن است که شترهای دنیای جدید نمی‌توانند در اپیدمی بیماری نقش داشته باشند. این مطلب با نتایج بدست آمده از این تحقیق همخوانی دارد و به احتمال قوی در ایران نیز شتر کمتر به عنوان حامل ویروس مطرح است تا سایر نشخوارکنندگان و اگر هم عفونتی در اثر گزش حشرات ناقل پیش آید به شکل گذرا است (۷).

نتایج یک بررسی در سایر نشخوارکنندگان ایران توسط عظیمی و همکاران مشخص کرد که سروتیپ-های مختلف بلوتانگ در دو گروه طبقه‌بندی می‌شوند. یک گروه به گونه‌های شرقی ویروس در هند و چین شباهت دارند و گروه دوم به گونه‌های غربی ویروس در آمریکا، اروپا و آفریقا شبیه‌اند (۵).

Antony و همکاران به منظور ردیابی ویروس دو جفت پرایمر که بر اساس انتهای قطعه شماره‌ی ۷ از ژنوم ویروس طراحی شده بودند را پیشنهاد کردند. این روش قابلیت ردیابی همه‌ی سروتیپ‌ها با هر منشا جغرافیایی که باشند، را دارد و هیچ واکنش متقاطعی با سایر اعضای جنس اربی ویروس ندارد از این رو در مطالعه حاضر از همین پرایمرها استفاده شد (۴).

طی گزارش Conraths و همکاران این بیماری در آلمان از سال ۲۰۰۶، در بین نشخوارکنندگان رؤیت شده و میزان مرگ و میر حدود ۶/۴٪ و ۱۳/۱٪ برای گوساله و ۳۷/۵٪ و ۴۱/۵٪ برای گوسفند می‌باشد. واکسیناسیون در سال ۲۰۰۸ این میزان را کاهش داد. Hamer و همکاران اثر آنتی بادی‌های مادری را بر ایمنی‌زایی ناشی از واکسیناسیون علیه BTV8 در

نشخوارکنندگان بررسی کردند و متوجه شدند که واکسیناسیون بره‌هایی که آنتی بادی مادری دریافت کرده بودند، تا سن ۲/۵ ماهگی یا بیشتر مقاومند (۹ و ۱۵).

طبق مطالعات De Clerco و همکاران بر خلاف سایر گونه‌های وحشی، سروتیپ ۸ ویروس بلوتانگ باعث بروز علائم کلینیکی در گوساله‌ها و عفونت جنین در میش‌ها و گاوهای حامله می‌گردد. به علاوه باعث آلودگی اسپرم در گاوهای نر نیز می‌شود. بلوتانگ هم چنین از طریق تلقیح مصنوعی نیز قابل انتقال است (۱۰).

آزمایشات سرولوژیکی نیز وجود آنتی بادی‌های این ویروس را در خون شترهای یک کوهانه‌ی کشور نشان داده است ولی گزارشی از وجود ژنوم ویروس در خون شترهای دنیای قدیم در ایران وجود ندارد. در تحقیق حاضر نیز ژنوم ویروس در خون هیچ یک از شترهای کشتار شده در نجف‌آباد یافت نشد.

منابع

۱- خان بائی، ه.، فکور، ش.، خضری، م.، محمدیان، ب.، رخزاد، ب. (۱۳۹۰). بررسی سرولوژیک بیماری زبان آبی در گوسفندان شهرستان سنندج به روش الیزا. *مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج*، جلد ۵، شماره ۲، صفحات ۱۸-۱۰.

۲- عظیمی، س.م.، کیوانفر، ه.، مهروانی، ه. (۱۳۸۸). تشخیص ویروس زبان آبی به وسیله‌ی RT-PCR در گوسفند. *مجله تحقیقات دامپزشکی*، جلد ۶۴، شماره ۲، صفحات ۱۴۶-۱۴۱.

۳- نیاسری نسلجی، ا.، عربها، ه.، اتک پور، ا.ب.، سلامی، م.، موسوی موحدی، ع.ا. (۱۳۹۰). نقش شیر شتر و ملکول‌های زیست فعال آن در درمان بیماری‌ها. *نشریه نشاء علم*، جلد ۲، شماره ۱، صفحات ۲۰-۲۴,

4- Anthony, S., Jones, H., Darpe, K.E., Elliott, H., Maan, S., Samuel, A., Mellor, P.S., Mertens, P.P.C. (2007). A duplex RT-PCR assay for detection of genome segment 7 (VP7 gene) from 24 BTV serotype. *Journal of Virological Methods* **141**:188-97.

5- Azimi, S.M., Keyvanfar, H., Pourbakhsh, S.A., Razmaraii, N. (2008). S7 gene Characterization of blue tongue viruses in Iran. *Archives of Razi Institute* **63**:15-21.

6- Batten, C.A., Harif, B. Henstock, M.R., Ghizlane, S., Edwards, S. (2011). Experimental infection of camels with blue tongue virus. *Research in Veterinary Science* **90**: 533-5.

7- Claudia, S., Michael, E., Mario, Z., Regula, W., Martin, B., Matthias, G., Christoph, G., Bernd, H., Christian, B. (2012). Cross-sectional study of blue tongue virus serotype 8 infection in South American camelids in Germany (2008/2009). *Veterinary Microbiology* **160**: 35-42.

8- Claudia, S., Michael, E., Miriam, R., Patricia, K., Markus, K., Christian, B., Matthias, G., Christoph, G.G., Martin, B., Bernd, H. (2012). Experimental infection of South American camelids with blue tongue virus serotype 8. *Veterinary Microbiology* **154**: 257–65.

9- Conraths, F.J., Gethmann, J.M., Staubach, C., Mettenleiter, T.C., Beer, M., Hoffmann, B. (2009). Epidemiology of blue tongue virus serotype 8 Germany. *Journal of Emergency Infection Dis*ease **15**: 433-5.

10- De Clerco, K., Venbinst, T., Defined, T. (2011). Transmission of blue tongue virus serotype 8 through artificial insemination using semen from naturally infected bulls. *Abstract book of 5th Annual Meeting Epizone*, Arnhem, Netherlands: 86-8.

11- Eisa, M., Karrar, A.E., Abd Elrahim, A.H. (1979). Incidence of blue tongue virus precipitating antibodies in sera of

some domestic animals in the Sudan. *Journal of Hygiene* **83**: 539-45.
12- Eschbaumer, M., Hoffmann, B., Knig, O., Teifke, J.P., Gethmann, J.M., Conraths, F.J., Probst, C., Mettenleiter, T.C., Beer, M. (2009). Efficacy of three inactivated vaccines against blue tongue virus serotype 8 in sheep. *Vaccine* **27**: 4169–75.
13- Fedorv, N.V. (1960). Plague in camel and prevention in the USSR. *Bulletin of the World Health Organization* **23**: 275-81.
14- Ghanem, Y.M., Fayed, A.A., Saad, A.A., Abdelkader, A.H. (2009). Serological survey on blue tongue virus infection in camels at two camel rearing regions of Somali. *Assiut Veterinary Medical Journal* **56**: 77-87.
15- Hamers, C., Blanchet, M., Besancon, L., Duboeuf, M., Capo, D., Lebourhis, C., Hudelet, P., Goutebroze, S. (2011). Efficacy of BTV8 in lambs, in the face of maternally derived antibodies. *Abstract book of 5th Annual Meeting Epizone,* Arnhem, Netherlands: 76-80.
16- Khezri, M., Azimi, S.M. (2012). Investigation of blue tongue virus in Kurdish sheep in Kurdistan province of Iran. *African Journal of Microbiology Research* **6**: 6496-501.
17- Maclachlan, N.G., Drew, C.P., Darpel, K.E., Worwa, G. (2009). The pathology and pathogenesis of blue tongue. *Journal of Comparative Pathology* **141**: 1-16.
18- MacLachlan, N.J., Dubovi, E.J. (2011). *Ferner's Veterinary Virology*. 4th edition, 32 Jamestown Road, London NW1 7BY, UK: 283-6.
19- Mahdavi, S., Khedmati, K., Pishraft Sabet, l. (2006). Serological evidence of blue tongue infectious in one humped camels (*Camelus dromedarius*) in Kerman province, Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research* **7**: 85-7.
20- Sprague, L., Al-Dahouk, S., Neubauer, H. (2012). A review on camel brucellosis: a zoonosis sustained by ignorance and indifference. *Pathogens and Global Health* **106**: 144-9.
21- Volkan, Y., Aykut, O. (2012). Serotypic identification of local blue tongue virus isolates using Plaque Reduction Neutralization (PRN) and Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RTPCR) techniques. *Ankara Univercity of Veerinaeyt Fakul Dergisi* **59**: 35-40.
22- Yousef, M.R., Al-Eesa, A.A., Al-Blowi, M.H. (2011). High seroprevalence of blue tongue virus antibodies in sheep, goats, cattle and camel in different districts of Saudi Arabia. *Veterinary World* **5**: 389-93.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 8, Issue 1, 2012

Genomic Detection of Blue tongue Virus in Dromedary Camels Slaughtered in Najafabad (Center of Iran) by RT-PCR Method

Mahzounieh, M.[1,2*], Salimi, M.[2,3], Golestanfar, A.[3], Hosini- nasab. S.M.A.[3]

1- Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran
2- Research Institute of Zoonotic Diseases, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran
3- Student of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

Received Date: 23 Jul 2012 *Accepted Date: 17 Oct 2012*

Abstract: *Blue tongue disease is a non-contagious, viral disease of ruminants, mainly sheep and less frequently cattle, goats, buffalo, deer, dromedaries and antelope. That is mainly transmitted by insects and cause lesion in the mouth, nasal mucosa, and limb, also existing reports of create abortion in some animals. Camel might be reservoir of BTV without showing of any clinical sings so it can be spread the virus among other regions and animals. The objective of this study was genomic detection of bluetongue virus in one humped camels slaughtered in central part of Iran. In order to detection of S7 sequence of bluetongue virus genome in 110 one humped camels that slaughtered in Najafabad abattoir, specimens were prepared. For preservation of coagulation heparin was added to blood samples and they transported to laboratory in cool box. RNA was extracted by acid guanidinium-isothiocyanat and phenol chloroform method and they were detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). All PCR products were separated by 1.5% agarose gels electrophoresis and stained with ethidium bromide. After that, they were analyzed by using gel documentation. The results of tests showed that all of samples were negative. Fortunately, it shows that in this studied area in our country, this infectious cannot be exist or transient infection in camel does not persist for a long time. As BTV infection was reported in some provinces, we highly recommend to expand study on camel infection with BTV.*

Keywords: *Camel, Blue tongue virus, Najafabad, Iran.*

**Corresponding author: Mahzounieh, M.*
Address: Associate Professor of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran. Tel: 03814424427
Email: mahzounieh@vet.sku.ac.ir