نشریه آموزشی- پژوهشی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور
فصلنامه تحقیقات کاربردی در علوم دامی
شماره ۳۸، بهـار ۱۴۰۰
ص‌ص: ۵۹~۶۶

بررسی تیتر سرمی و شناسائی مولکولی ویروس عامل اسهال ویروسی گاوها (BVDV) در شتر های تک کوهانه شهرستان سبزوار

محبوبه مصدق حصاری[۱] ، سعید زیبائی *[۲] ، احمد عریان [۳]
۱- دانش آموخته دکتری تخصصی پاتولوژی،دانشگاه شیراز، دانشکده دامپزشکی ،گروه پاتولوژی
۲-دانشیار موسسه تحقیقات واکسن وسرم سازی رازی شعبه شمال شرق ، بخش تحقیق و توسعه فرآورده های بیولوژیک ، سازمان تحقیقات ، آموزش و ترویج کشاورزی ، مشهد
۳-استاد پاتولوژی،دانشگاه شیراز، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، گروه پاتولوژی

تاریخ دریافت : دی ۱۳۹۹ تاریخ پذیرش : اردیبهشت ۱۴۰۰
شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۵۳۰۳۵۹۱۹
Email: S.zibaee@rvsri.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ aasrj.2021.124292

چکیده:

اسهال ویروسی گاو ها (*BVD*) بیماری ویروسی در شترها می باشد این ویروس از آلپاکا و شترهای تک کوهانه جدا شده است اما هیچ گزارشی از وجود *BVD* در شترهای دوکوهانه وجود ندارد *BVD* یک بیماری واگیر مهم است که توسط یک ویروس RNA دار کوچک از جنس پستی ویروس ایجاد می شودو ضایعات مهمی (از قبیل سقط جنین) را در بچه شترها و شترهای بالغ ایجاد می نماید.در این مطالعه ۵۶ نمونه شترهای سبزوارتهیه وپس از جداسازی سرم آزمایش های الایزای غیر مسقیم وبررسی مولکولی توسط PCR-RTو PCR-RT time-Real بر روی نمونه های انجام شد . نتایج نشان داد که۲۰ نمونه از ۵۶ نمونه(۳۵/۷۱درصد) ادارای تیتر سرمی ویروس *BVDV* می باشند همچنین تعداد ۵۱ نمونه(۹۱/۰۷ درصد) با استفاده ازشناسایی مولکولیRT-PCR و PCR-RT time-Real مثبت می باشند.

Applied Animal Science Research Journal No 38 pp: 59-66

Survey of serum titer and molecular detection of Bovine Viral Diarrhea Virus in Dromedary Camels of Sabzevar city

By: Mosadegh, M1. Zibaee,S 2*. Oryan.A 3
1- PhD in Pathology graduate student Shiraz University School of Veterinary Medicine. Department of Pathology
2- Associate professor Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). Mashhad
3- Professor in Pathology, Shiraz University, School of Veterinary Medicine, Department of Pathology
Corresponding Author: Saied Zibaee Tel:09153045949 Fax: 05138420430 S.zibaee@rvsri.ac.ir

Received: December 2020 **Accepted: April 2021**

Bovine viral diarrhea *(BVD)* is a viral disease in camels. The virus has been isolated from alpaca and dromedary camels, but there are no reports of BVD in Bactrian camels. *BVD* is an important infectious disease caused by a small RNA of the Pestivirus *(BVDV).* The virus develops and causes significant lesions (such as abortion) in young and adult camels. In this study, 56 samples of dromedary from camels of Sabzevar were obtained. After serum isolation, indirect ELISA tests and molecular analysis by PCR-RT and PCR-RT time-Real was performed on the samples. The results showed that 20 samples out of 56 samples (35.71%) are serum titers of *BVDV virus*. Also, 51 samples (91.7%) using RT-PCR molecular identification and PCR-RT time-Real are positive.

۱-مقدمه : ایران با داشتن مراتع نیمه کویری ، آب و هوای خشک مستعد پرورش شتر می باشد. در مراتع فقیر بیشتر گیاهان شور پسند و خاردار می روید. شتر مهم ترین دامی است که می تواند در چنین مراتعی زیست داشته و با توجه به عادات چرایی خود باعث حفظ و احیای این مراتع گردد .

براساس گزارش دفتر مهندسی سازمان جنگلها، مراتع و آبخیزداری، وسعت مراتع کشور ۸۴/۸ میلیون هکتار است ، مراتع متراکم ، ۸/۵ ،مراتع نیمه متراکم ۲۵/۳ و مراتع کمتر متراکم ، ۶۶/۲ درصد از سطح مراتع را شامل می شود(۲).شتر قادر است در شرایط تغذیه دستی نیز افزایش وزن بالایی داشته باشد و نسبت به سایر دام ها مقدار ماده خشک کمتری نسبت به وزن متابولیکی خود مصرف نماید (۸).توسعه پایدار مستلزم برنامه ریزی، مدیریت و بهره برداری بهینه از منابع در اختیار می باشد .توسعه ای پایدار است که نیازهای کنونی را بدون صدمه زدن به ظرفیت نسلهای آتی در تأمین نیازهایشان برآورده سازد (۱۸،۱۳). سبزوار در غرب استان خراسان رضوی با بارندگی سالانه ۱۸۵/۱ میلی متر قرار دارد. تعداد شتر های سبزوار ۳۵۰۰ نفر بوده که حدودا یک سوم جمعیت شتر استان است(۱).با توجه به اهمیت شتر بخصوص در مناطق با بارندگی کم ، مقتضی است تا برای رونق شتر داری از شتر د اری نوین بر پایه علوم روز بر اساس استراتژی و آینده نگاری استفاده گردد.با عنایت به لزوم توسعه شتر داری در ایران، آشنایی کامل به بیماریهای و عوامل بیماریزادر شترمی تواند از ابزار های توسعه در این راستا باشد. ازاین رو مطالعه بر روی این بیماریها در شترهای ایران ضروری است.

اسهال ویروسی گاوها (BVDV) یک ویروس RNA کوچک فلاوی ویریده است.امروزه دو ژنوتیپ *BVDV-1* ،*BVDV* و *BVDV-2* بر اساس سکانس نوکلئوتیدی ناحیه ترجمه نشده 5′ به رسمیت شناخته می شود. *BVDV-1* انتشار جهانی دارد، در

صورتیکه *BVDV-2* عمدتاً محدود به آمریکا و کانادا می شود اما همچنین در ایتالیا، هلند و انگلستان جدا شده است (Reid, 2010). این ژنوتیپ در ایران نیز شناسائی شده است. هر یک از دو ژنوتیپ دو بیوتیپ دارند، بیوتیپ های غیر سیتوپاتیک (*ncp*) و سیتوپاتیک (*cp*) (۱۳). جدایه های ژنوتیپ ۱ حداقل به دو زیر ژنوتیپ (1a و 1b) تقسیم می شوند. شترسانان نسبت به عفونت حساس می باشند.در آلپاکاها هر دو زیر ژنوتیپ 1a و 1b و ژنوتیپ ۲ جدا شده اند .ژنوتیپ 1b *BVDV* غیر سیتوپاتیک بطور اولیه در NWCs دیده می شود. همچنین سویه *BVDV* منحصر به شتر سانان هنوز شناخته نشده است (۱۹).کشف وجود بیماری *BVD*در شتر عمدتا برمبنای روش های شرم شناختی است.عفونت *BVDV* دائمی در NWCs ممکن است اتفاق افتد، هنگامیکه جنین در طول اوائل آبستنی قبل از اینکه ایمنی تقویت گرددآلوده می شود. مشاهدات نشان داده است که ۸۰ ٪ گوساله های متولد شده از مادرانی که در طی اوائل آبستنی آلوده شده باشند دچار عفونت دائمی (PI) می شوند (۵،۶). در گاو، شیوع حیوانات PI حدود ۱٪ است. تنها در یک مورد بیوتیپ سیتوپاتیک از یک جنین لاما جدا شد است (۴).

عفونت *BVD* در شترهای نوزاد در مصر توسط Hegazy و همکاران (۱۹۹۸)توصیف شده است که مسبب مرگ داخل رحمی، نوزاد مرده به دنیا آمده و سندروم زجر تنفسی نوزادان در شترهای یک کوهانه جوان و گاستروانتریت هموراژیک حاد در شترهای یک کوهانه بالغ می شود. *BVDV* از بافتهای لنفاوی، طحال، مغز و کلیه بر روی سلولهای کلیه گاو (BKC) جدا شد و یک اثر سیتوپاتیک (CPE) نشان داد. این ویروس همچنین بوسیله ایمنوفلوئورسنس در اندامهای مختلف مشاهده شد. سپس توسط Yousifو همکاران (۲۰۰۴) تعیین ژنوتیپ شده و به نامهای Giza 4 و Giza 7 مربوط به *BVDV* تیپ ۱ و *BVDV* تیپ ۲ اتلاق گردید. هیچ ncp *BVDV* جدا نشد و گزارشی وجود ندارد که حیوانات PI در شترهای یک کوهانه شناسایی شده باشند.

۲- مواد و روش ها:

۱-۲-تهیه نمونه ها: نمونه های خون ۵۶ شتر از سبزوار (خراسان رضوی) به مؤسسه تحقیقات، واکسن وسرم سازی رازی، مشهد، ایران، فرستاده شد.از نمونه ای سرم تهیه و تا زمان آزمایش در دمای°C ۲۰ – نگهداری شد. کنترل مثبت و منفی به ترتیب از نمونه *BVD* مثبت گاوی و آب مقطر استفاده شد.

۱-۲-مطالعه سرولوژیک: بدین منظور از الایزای غیر مستقیم طبق روش (OIE, 2008) با تغییرات اندک انجام گرفت.

از آنتی آنتی بادی شتر که در خرگوش تهیه شده بود و با HRPکونژوگه شده بود : Rabbit- anti camel کونژوگه در الایزای غیر مستقیم جهت شناسایی آنتی بادی استفاده شد. آنتی ژن *BVDV* خالص از مؤسسه تحقیقات، واکسن و سرم سازی رازی تهیه گردید.

۲-۲-شناسائی مولکولی:

۱-۲-۲-استخراج RNA : استخراج بوسیله کیت استخراج RNAکیت Viral Pure High Kit Acid Nucleicساخت شرکت *Roche* براساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت اسید نوکلئیک ویروسی تخلیص شده و در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید.

۲-۲-۲- RT-PCR : بعد از استخراج RNA، cDNA ساخته شد از کیت Accupower RT PreMix متعلق به شرکت Bioneer بایونیر طبق دستور استفاده شد .PCR بوسیله کیت بایونیر (Accupower PCR PreMix kit) انجام شد که شامل میکروتیوب premix PCR است. یک جفت پرایمر ذیل برای تکثیر ناحیه 5'UTR ژنوم *BVD* انتخاب گردید. اندازه محصول bp ۲۹۶ بود.

UTR F: TAGCCATGCCCTTAGTAGGAC
UTR R: ACTCCATGTGCCATGTACAGC

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر از

هر پرایمر، ۲ میکرولیتر الگوی DNA و حجم متناسب از آب عاری از نوکلئاز انجام شد. نمونه ها در دستگاه حرارتی انکوبه شد: سیکل اول: ۳ دقیقه در°C ۹۴ (مرحله دناچوره ابتدایی)، سیکل دوم: ۳۰ ثانیه در°C ۹۴ ، ۳۰ ثانیه در°C ۵۰ و ۳۰ ثانیه در°C ۷۲ انجام شد. سیکل دوم ۳۵ بار تکرار شد. سیکل آخر ۱۰ دقیقه در°C ۷۲ (مرحله طویل شدن نهایی) و تا زمان آنالیز در °C ۴ نگهداری شد. ۵ میکرولیتر نمونه با محلول Loading dye ترکیب شد و در ژل آگاروز ۱٪ در بافر TBE (Tris/Borate/EDTA) محتوی سایبر گرین load شد. مسیر موازی با یک Ladder شناسایی کننده DNA، انجام شد.

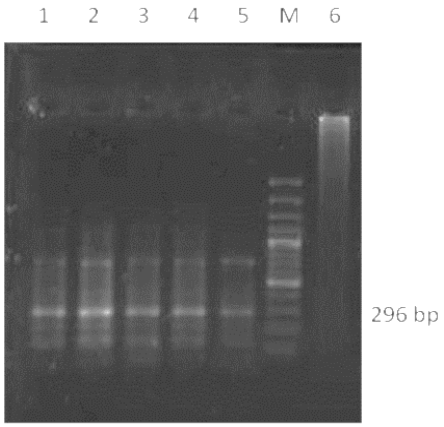
۳-۲-۲- Real-time RT-PCR : این RT-PCR در حضور سایبرگرین بر روی RNA با استفاده از Rotor gene Q 2version جفت پرایمر ناحیه 5'UTR ژنوم BVD وکیت سایبرگرین (پارس توس) انجام شد. روش PCR در حجم نهایی ۲۰ میلی لیتری با ترکیب واکنش ۳ میکرولیتر آب، ۱۰ میکرولیتر mix master ، ۲ میکرولیتر از هر پرایمر Forward و Reverse و ۵ میکرولیتر RNA (رقیق شده ۱:۱۰ در آب مخصوص PCR) انجام شد. پارامترهای حرارتی به صورت زیر بودند: سیکل اول: ۳ دقیقه در°C ۹۴ ، سیکل دوم:۳۰ ثانیه در°C ۹۴، ۳۰ ثانیه در°C ۵۰ و۳۰ ثانیه در°C ۷۲ . مرحله دوم ۳۵ بار تکرار شد. مرحله آخر ۱۰ دقیقه در°C ۷۲ ، سپس یک مرحله ذوب و همانطور که در دستورالعمل کیت ذکر شده، در طول مرحله ذوب، دما به صورت افزایش°C ۰/۱ در ثانیه بین °C ۶۵ تا °C ۷۵ افزایش یافت.

۳- نتایج:

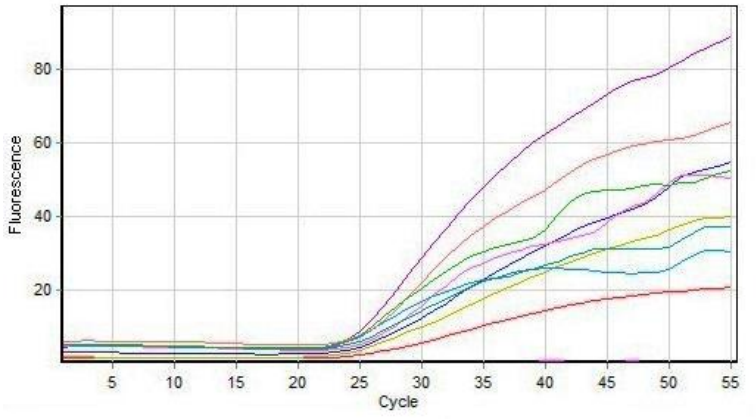
۳-۱- الایزای غیر مستقیم: نتایج نشان داد که ۲۰ نمونه از ۵۶ نمونه(۳۵/۷۱درصد) ادارای تیتر سرمی ویروس *BVDV* می باشند.

۳-۲- RT-PCR :نتایج نشان داد که تعداد ۵۱ نمونه(۹۱/۰۷ درصد) با استفاده ازشناسایی مولکولیRT-PCR مثبت بودند .

۳-۳- Real-time RT-PCR:این روش تکثیر مثبت را نشان داد و منحنی سیگموئید به دست آمده در منحنی تکثیر استاندارد، وجود تکثیر یک محصول ویژه را تأیید کرد. RNA ویروسی در۵۱ نمونه(نمونه هایی که RT-PCR آنها مثبت بود) از نظر ویروس *BVD* مثبت بودند.کنترل منفی ویروس *BVD* (NTC) تست شده بوسیله روش Real-time PCR مثبت نبود (تصویر۳-۱).



تصویر ۳-۱: مشاهده محصولات PCR ویروس *BVD* بوسیله الکتروفورز. شماره های۱ ، ۲، ۳ و ۴ نمونه های شتر که از نظر *BVD* مثبت می باشند -شماره. ۵: کنترل مثبت- شماره ۶: کنترل منفی- M: مارکر bp ۱۰۰ .



نمودار ۳-۱:منحنی تکثیر Real-time PCR ویروسهای *BVD* آزمایش شده تکثیر مثبت را بیان می دهد.

No.	Colour	Name	Type	Ct	Given Conc (copies/ml)	Calc Conc (copies/ml)	% Var
1		1	Unknown	22.36			
2		2	Unknown	20.59			
3		3	Unknown	22.28			
4		4	Unknown	21.31			
5		5	Unknown				
6		6	Unknown	22.26			
7		7	Unknown				
8		8	Unknown	22.92			
9		9	Unknown	22.18			
10		10ntc	NTC				

جدول ۳-۱: جدول نمایش نمونه ها بوسیله رنگها و بررسی ct

٤-بحث:

مطالعات سرولوژیک نشان می دهند که شترسانان دنیای قدیم و جدید نسبت به عفونت با *BVDV* حساس هستند (۲۰). در مطالعه حاضر، آنتی بادیهای اسهال ویروسی گاو در سرمهای ۳۵/۷ درصد شترها شناسایی شد. همانطور که رئوفی و همکاران در سال ۲۰۱۰ بیان کرده اند، میزان شترهایی که در ایران از نظر سرمی مثبت هستند بطور قابل ملاحظه در مقایسه با اشکال منتشر شده در اغلب کشورهای دیگر بالاتر است. در یک بررسی تشخیص سرمی در ایران، همت زاده و همکاران در سال ۲۰۰۱ میزان ۲۳/۴٪ گاوهای BVDV مثبت را شناسایی کردند. آنها نشان دادند که ارتباط معنی داری بین پرورش چند گونه (گاو با گوسفند) و عفونت BVDV وجود دارد. شترها ممکن است در دوام و انتقال عفونت *BVDV* در بین شترها نقش داشته باشند. شیوع آنتی بادیهای *BVDV* در ۲۱۰۴ گوسفند آزمایش شده در ایران ۱۳/۵٪ بود (۱۲). شترها اغلب در ایران در تماس با حیوانات اهلی از قبیل گوسفند و بز و به میزان کمتر با گاو هستند. Raoofiو همکاران در سال ۲۰۱۰ تعداد ۱۳۷ نمونه سرم گرفته شده از شتر های تهران را توسط آزمایش خنثی سازی سرم مورد بررسی قرار دادند و ۱۹/۷ درصد آنها را از نظر وجود آنتی بادی علیه BVDV مثبت تلقی نمودند.

آنتی بادیهای علیه *BVDV* در ۶/۷٪ سرم شترهای در عمان شناسایی شده اند (۱۰). شیوع آنتی بادیهای *BVDV* در ۱۰۲ شتر سودان ۱۵/۷٪ نشان داده شده است (بورن استین و موسی، ۱۹۸۷). در یک مطالعه سرولوژیک در تونس، بورجمیستر و همکاران در سال ۱۹۷۵ میزان۳/۹٪ شترها را مثبت شناسایی کردند. در مطالعه دیگر زاقاوا (۱۹۹۸) میزان ۵۲/۵٪ آنتی بادیهای خنثی کننده *BVDV* در شتر تک کوهانه در مصر شناسایی کرد. در یک مطالعه سرولوژیک انجام شده در جیبوتی (۷) هیچ آنتی بادی نسبت به *BVDV* در شترها شناسایی نشد. با استفاده از SNT (تست خنثی سازی سرم)، ورنری (۱۹۹۰) در امارات متحده عربی، میزان بالاتری ازآنتی بادی ضد *BVD* در شترهایی که جهت تولید مثل کاربرد داشتند (۹/۲٪) را در مقایسه با شترهای مسابقه (۶/۳٪) گزارش کردند. در بررسی دیگری توسط آزمایش الایزای میزان آنتی بادیهای *BVDV* در ۵۵۲ شترآزمایش شده در امارات متحده عربی در شترهای مسابقه ۰/۵٪ و در شترهایی که جهت تولید مثل استفاده می شدند ۶/۴٪ بود است (۲۰). در بررسی سرولوژیک دیگری در آرژانتین، پونتل و همکاران (۱۹۹۹) میزان ۲/۰۵ درصد لاماهای BVDV مثبت را شناسایی کردند. شیوع آنتی بادیهای *BVDV* در ۱۱۷ آلپاکای تست شده در پرو ۱۱/۱٪ بود (۱۵). نتایج Real-time PCR استفاده شده در تحقیق حاضر، با مطالعات گذشته قابل مقایسه بود است. ژانگ و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که روش سایبر گرین RT-PCR یک مرحله ای ۱۰ برابر حساستر از روش RT-PCR معمولی است. در مقایسه با PCR معمولی روش SYBR Green I Real-time PCR روشی مؤثرتر با محدودیت کمتری برای تشخیص و حساسیت بیشتر بود (۱۷). همچنین ثابت شده است که time Real- PCR سریعتر، حساستر وبا قابلیت اطمینان بیشتر نسبت به جداسازی ویروس بوسیله کشت سلول می باشد (۲۱)

اما، مطالعات کمتری وجود دارند که وجود *BVDV* را در شترها بوسیله روشهای سرولوژیک ارزیابی کرده اند. این بررسی اولین مطالعه تأیید کننده وجود *BVDV* در شترهای تک کوهانه است که توسط آزمایش Real-time RT-PCR در این کشور صورت گرفته است.

Al-Rubayie 2016 از ۸۸ نمونه کار شده در عراق ۱۳/۶۳ درصد را از نظر وجود آنتی بادی ضد *BVD* مثبت نشان داد. همچنین Saidiو همکاران (۲۰۱۸) میزان آنتی بادی در شتر های الجزیره را ۹ درصد نشان دادند درا این تحقیق ۴۱/۴ درصد از شتر ها از نظر آنتی ژنی مثبت تلقی شدند. این محققین اعتقاد دارند برای پیشگیری و کنترل *BVDV* باید برای پرورش نزدیک شتر با نشخوارکنندگان محدودیت اعمال نمود(۱۶،۳). با توجه به احتما سقط جنین متعاقب گرفتن بیماری *BVD* و نیز میزان زیاد این بیماری در گله ها گاو های ایران پیشنهاد می گردد در خصوص پرورش توام شتر با سایر نشخوار کنندگان باید توجه کافی مبذول داشت.

چون *BVDV* باعث سقط در شترها می شود، ممکن است ضروری باشد که استرانژیهای واکسیناسیون و کنترل مشابه در گاو اتخاذ گردد. واکسنهای زنده و غیرفعال بصورت گسترده در چندین کشور استفاده شده اند. واکسنهای زنده در شترسانان توصیه نمی شوند، زیرا اثرات مضر، استفاده از واکسنهای زنده *BVDV* در گاو مشاهده شده است. همچنین بررسیها در گاو، به فهم جدیدی از اپیدمیولوژی پیچیده و پاتوژنز *BVD* و *MD* منجر شده است و می توان امیدوار بود که با کوشش بیشتر درخانواده شترسانان نیز این امر انجام شود.

۵-توصیه های ترویجی: بر اساس نتایج بدست آمده توصیه می گردد برای گله های پرورش شتر آزمایش اندازه گیری آنتی بادی اختصاصی بر علیه ویروس اسهال ویروسی گاو ها انجام گیرد و این گله ها جدا از گله های نشخوارکنندگان پرورش یابند.

منابع

استانداری خراسان رضوی(۱۳۹۰) ،معاونت استانداری و فرمانداری ویژه شهرستان سبزوار ،سند توسعه شهرستان سبزوار ویرایش اول.

معتمد،ج. جلیلی،ع. ارزانی،ح. خداقلی،م(۱۳۹۹). علل تخریب مراتع در کشور و راهکارهای برون رفت از وضعیت پیش آمده. طبیعت ایران. جلد ۵ ،شماره ۴ ،پیاپی ۲۳ ،۴۴-۲۱

Al-Rubayie,K,MI.(2016) Detection of bovine viral diarrhea-mucosal disease (BVDMD) virus in Dromedary camel in Iraq using ELISA/ A preliminary study. Mirror of Research in Veterinary Sciences and Animals. 16-17 March, 70-74

Bedenice D (2006). Bovine viral diarrhea virus (BVDV) in South American camelids. Proceedings of the International Camelid Health Conference for Veterinarians, (ICHCV' 06), Ohio State University, USA.256-262.

Bedenice D (2008). Immunological responses in BVDV persistently infected alpacas. Proceedings International Camelid Health Conference for Veterinarians, (ICHCV' 08), Ohio State University, USA.167-169.

Bedenice D, Dubovi E, Kelling CL, Henningson JN, Topliff CL, Parry N (2011). Long-term clinicopathological characteristics of alpacas naturally infected with bovine viral diarrhea virus type Ib. Journal of Veterinary Internernational Medicine. 25.605-612

Bohrmann R, Frey HR, Liess B (1988). Survey on the prevalence of neutralizing antibodies to bovine viral diarrhea (BVD) virus, bovine herpes virus type 1 (BHV-1) and parainfluenza virus type 3 (PI-3) in ruminants in the Djibouti Republic. Deutsche tierarztliche Wochenschrift. 95. 99-102.

Chapman MJ (1985). Bactrian camels. World Animal Review. 55. 14-19.

Daniels, M. (2014). Assessing Mixed-Use - Evaluating New Urbanism in New England".Honors Scholar Theses, University of Connecticut. 338

Hedger RS, Barnett TR, Gray DF (1980). Some virus diseases of domestic animals in the Sultanate of Oman. Tropical Animal Health and Production. 12: 107-114. PMID: 6251586.

Hegazy AA, Fahmy LS, Saber MS, Aboellail TA Yousif AA et al (1998). Bovine virus diarrhea infection causes reproductive failure and neonatal mortality in the dromedary camel. Proceedings of the International Meeting on Camel Production and Future Perspectives. Al Ain, UAE. 2-3

12-Keyvanfar H, Hemmatzadeh F, Kargar Moakhar R (1999). A serological survey on prevalence of Border Disease in Iran. Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran. 54. 1–8

Peterhans E, Bachofen C, Stalder H, Schweizer M (2010). Cytopathic Bovine Viral Diarrhea Viruses (BVDV): Emerging pestiviruses doomed to extinction. Veterinary Research. 41. 1-14

Raoofi A, Hemmatzade F,Ghanei AM (2010). Serological survey of antibodies against BVD virus in camels (Camelus dromedarius) in Iran. Tropical Animal Health and Production. 42.411–414

Rivera H, Madewell BR, Ameghino E (1987). Serologic survey of viral antibodies in the Peruvian alpaca (Lama pacos). American Journal of Veterinary Research. 48. 189-191

Saidi, R. Bessas,A .Bitam,I. Ergün,Y. Ataseven,VS. (2018).Bovine herpesvirus-1 (BHV-1), bovine leukemia virus (BLV) and bovine viral diarrhea virus (BVDV) infections in Algerian dromedary camels (Camelus dromaderius). Tropical Animal Health and Production . 50, 561–564.

Scipioni A, Mauroy A, Ziant D, Saegerman C, Thiry E (2008). A SYBR Green RT-PCR assay in single tube to detect human and bovine noroviruses and control for inhibition. Virology Journal. 5. 94-102

Teriman, S. (2012). Sustainablity: A Comparative Analysis of Residental Types in Malaysia, Theisis for PH.D of Civivc Engining and Enginning, Qeesland University of Tecnology

Wernery U (2012). BOVINE VIRAL DIARRHEA- AN EMERGING DISEASE DISEASE IN CAMELIDS A REVIEW. American Journal of Virology. 1. 9-17

Wernery U, Kaaden OR (2002). Infectious diseases in camelids. Blackwell (2. rev. and enl. ed.). 176–187

Young NJ, Thomas CJ, Collins ME, Brownlie J (2006). Real-time RT-PCR detection of Bovine Viral Diarrhoea virus in whole blood using an external RNA reference. Journal of Virological Methods. 138.218-222

Yousif AA, Braun LJ, Saber MS, Aboelleil T, Chase CCL (2004). Cytopathic genotype 2 bovine viral diarrhea virus in dromedary camels. Arab Journal of Biotechnology. 7.123-140