نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی دوره بیست و یکم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۴۰۴،
پیاپی ۵۰ : ۷۴-۶۴

مقاله پژوهشی

شناسایی کشتارگاهی آنتی ژن ویروس سنسیشیال تنفسی BRSV در ریه شترهای مبتلا به پنومونی با استفاده از تکنیک‌های هیستوپاتولوژی و ایمنوهیستوشیمی

کیوان جمشیدی

استادیار گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرمسار، گرمسار، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۲۵

چکیده مبسوط

زمینه و هدف مطالعه: ویروس سنسیشیال تنفسی یکی از ویروس‌های اصلی مرتبط با عفونت‌های تنفسی در گونه‌های مختلف دامی می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر تحقیق در خصوص وقوع عفونت با منشاء ویروس سنسیشیال تنفسی در شتر در شهرستان دامغان استان سمنان می‌باشد. **مواد و روش‌ها**: به همین منظور ریه‌های ۱۱۵ شتر نر نحر شده که تحت معاینات پس از مرگ قرار گرفته بودند برای یافتن ضایعات پنومونی مزمن مورد بررسی ماکروسکپی قرار گرفتند. از مجموع ۲۱ مورد ریه مبتلا به پنومونی، ۱۵ مورد تحت عنوان پنومونی برونکواینترستیشیال و پنومونی بینابینی و ۶ مورد تحت عنوان برونکوپنومونی چرکی نزله‌ای و انگلی براساس معیارهای پاتولوژی طبقه بندی شدند. به استثنای ۶ مورد با علائم پنومونی انگلی و برونکوپنومونی چرکی نزله‌ای، ۱۵ مورد بقیه با علائم پنومونی برونکواینترستیشیال و پنومونی بینابینی برای شناسایی آنتی ژن RSV مورد استفاده قرار گرفتند. مقاطع اخذ شده از نمونه‌های بافتی فیکس شده در فرمالین و غالب گیری شده در پارافین با استفاده از روش متداول H&E و سپس روش ایمونوهیستوشیمی (avidin-biotin-peroxidase complex) برای شناسایی آنتی ژن RSV رنگ آمیزی شدند. **نتایج:** در مطالعه حاضر از مجموع ۱۵ مورد در ۳ مورد (۲۰٪) آنتی ژن‌های ویروسی شناسایی شدند که عمدتاً در سلول‌های اپیتلیوم برونشیولی، پنوموسیت های تیپ II و تا حد کمتری در سلول‌های اپیتلیوم غدد برونشی، سلول‌های سینسیشیال، ماکروماژهای آلوئولی، لنفوسیت‌ها و پلاسما سل‌ها مشاهده شد. **نتیجه گیری:** در مجموع، ضمن تشخیص میزان شیوع آنتی ژن RSV در موارد پنومونی شترها در شهرستان دامغان، نقش احتمالی RSV در ایجاد پنومونی بینابینی درشترهای کشتاری نیز اعلام گردید.

کلمات کلیدی: ویروس یسنسیشیال تنفسی، آنتی ژن، پنومونی، ایمنوهیستوشیمی، شتر

* نویسنده مسئول : کیوان جمشیدی

آدرس: گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرمسار، گرمسار، ایران

پست الکترونیک: keivan.jamshidi@iau.ac.ir

مقدمه

عفونت‌های مجاری پایینی تنفس یا پنومونی به عنوان مشکل شایع شترهای دوکوهانه گزارش شده‌اند. اگرچه شترها حیواناتی هستند که با شرایط محیطی خشک و سخت به خوبی سازش یافته و نسبت به بسیاری از ارگانیزم‌های مولد بیماری مقاومت پیدا کرده‌اند ولی بیماری‌های تنفسی، به دلیل کاهش تولید، هزینه‌های درمان، حذف لاشه در کشتارگاه و حتی مرگ حیوانات بیمار، همچنان به عنوان عامل قابل توجه ضرر و زیان اقتصادی به صنعت پرورش شتر بشمار می‌آید (Intisar et al., 2010).

ویروس سنسیشیال تنفسیRSV یکی از مهمترین ویروس‌های مرتبط با عفونت‌های تنفسی در گونه‌های مختلف دامی است (Oguzhan et al., 2014; Intisar et al., 2010). ویروس سنسیشیال تنفسی RSV برای اولین بار در ژاپن، بلژیک و سوییس در سال ۱۹۶۷ شناسایی شد و سپس در انگلستان و آمریکا جداسازی شد (Toker and Yeşilbağ., 2021).

بیماری سنسیشیال تنفسی توسط ویروسی از جنس Pneumoviruses و خانواده Paramyxoviridae و تحت خانواده Pneumovirinae بوجود می‌آید. یک ویروس پوشش دار بوده که توسط پپلومرها پوشیده شده و حاوی نوکلئوکپسیدهای قرینه هلیکال می‌باشد. یک ویروس RNA دار تک رشته‌ای negative-sense و غیر قطعه‌ای است (Turke et al., 2020; Intisar et al., 2010).

این ویروس بدلیل نداشتن neuraminidase با دیگر ویروس‌های خانواده paramyxoviruses فرق دارد. RSV یک ویروس شکننده است که توسط آئروسل های تنفسی از حیوانی به حیوان دیگر منتقل می‌شود (Li., et al., 2012; Al-Ruwaili 2017)

ویروس سنسیشیال تنفسی گاوان Bovine respiratory syncytial virus (BRSV) ارتباط بسیار نزدیکی با ویروس سنسیشیال تنفسی انسانی (HRSV) دارد ولی با این وجود مدرکی که نشان دهنده انتقال بین گونه‌ای بین انسان و گاو باشد وجود ندارد.انتقال این ویروس‌ها به تماس نزدیک وابسته است، زیرا قادر به ادامه حیات برای مدت طولانی در محیط نیستند. شکننده بودن ویروس جداسازی آن در آزمایشگاه را مشکل می‌سازد، لذا استفاده از نمونه‌های کلینیکی مانند سواب های دماغی تشخیص عفونت با منشاء BRSV در گاو را مشکل می‌سازد (Zuhair et al., 2017).

عفونت RSV با وقوع ناگهانی تب، تنفس شکمی، خستگی، رنیت، ترشحات دماغی و سرفه مشخص می‌گردد. یافته‌های پس از مرگ عبارتند از برونشیولیت و پنومونی بینابینی، آدم، آمفیزم در تمام لوب‌های ریوی که پیشرفت کرده به برونکوپنومونی و مرگ ختم می‌گردد (Li., 2017; et al., Zuhair 2017).

عفونت تنفسی با منشاء RSV منجر به از دست رفتن کامل مژکهای پوشش اپیتلیومی مجاری تنفسی ظرف ۸-۱۰ روز پس از عفونت می‌گردد. یافته هیستوپاتولوژیک مشخصه بیماری حضور سلول‌های سینسیشیال در بافت ریه است که بزرگتر از آن چیزیست که در عفونت‌های با منشاء PIV3 دیده می‌شود (Turke et al., 2020).

مدارکی وجود دارد که نشان می‌دهد شرایط آب و هوایی بر وقوع عفونت‌های با منشاء RSV تأثیر می‌گذارد که سبب وقوع بیشتر در پاییز و زمستان می‌گردد. فاکتورهایی که منجر به افزایش میزان وقوع فصلی بیماری می‌شوند عبارتند از شرایط آب و هوایی که زمینه گسترش ویروس را فراهم می‌کنند یا مدیریت فصلی مانند نگهداری شتر و گاو در یک محل. اگرچه موارد شیوع BRSV در تابستان نیز گزارش شده است ولی تصور می‌شود موارد شیوع BRSV در تابستان می‌تواند بدلیل وقوع تغییرات آب و هوایی مانند کاهش ناگهانی دما یا افت فشار اتمسفر باشد (Gebru et al., 2018; Bakhesh Alhendi., 2000).

ویروس‌های گزارش شده در عفونت‌های تنفسی در شتر عبارتند از parainfluenza 3، influenza virus A، influenza virus B، respiratory syncytial virus (RSV) و infectious bovine rhinotracheitis (IBR) (Kebedi ., 2010).

در مطالعات سرولوژیک روی نمونه‌های سرمی شتر، آنتی بادی BRSV به ترتیب در ۰/۶٪ در نیجریه و ۹/۸٪ در مصر گزارش شد(Wareth et al., 2014). همچنین در مطالعات سرمی صورت گرفته روی لاماهای پرو (Peruvian / Lama Pacos alpaca) با استفاده از روش SN، آنتی بادی‌های PIV3 و BRSV در ۲۱٪ نمونه‌های سرمی لاماها شناسایی گردید (Almeida, 2006).

محققین مختلفی توانستند پیش از این وجود آنتی بادی‌های BRSV را در نمونه‌های سرمی گونه‌های مختلف دامی نشان دهند که از آن جمله می‌توان به ۷۳٪ مثبت در گاو از ترکیه (., Yesilbag and Güngor 2008)، و ۴۱٪ مثبت در roe deer و ۸۲٪ مثبت در گوسفند از ایتالیا (Solís-Calderón ., 2007)، را اشاره کرد

در ایران بارها و بارها محققین مختلف در گزارشات متعدد خود به وقوع عفونت‌های تنفسی در گونه‌های مختلف دامی به عنوان عامل مهم ضرر و زیان اقتصادی به صنعت دامپروری کشور اشاره داشته‌اند (Gaffuri et al., 2006).

ولی با توجه به دانش مؤلف تاکنون مطالعه‌ای با هدف بیان نقش BRSV در ایجاد عفونت‌های تنفسی در شتر گزارش نشده است. این مطالعه با هدف بررسی نقش BRSV در عفونت ریوی شتر از طریق بررسی حضور و میزان شیوع آنتی ژن BRSV در مقاطع بافتی تثبیت شده در فرمالین و قالب گیری شده در پارافین اخذ شده از ریه شترهای مبتلا به پنومونی و کشتاری و با استفاده از تکنیک IHC در شهرستان دامغان یکی از بزرگترین شهرستان‌های کشور بلحاظ پرورش این دام با ارزش به مرحله اجرا در آمده است.

مواد و روش‌ها

منطقه تحت مطالعه

مطالعه مورد نظر در کشتارگاه شهرستان دامغان، یک ناحیه نیمه بیابانی در حاشیه فلات مرکزی نزدیکی کویر مرکزی فلات ایران بعمل آمد (نگاره- ۱،۲).

حیوانات و پروتکل مطالعه

در مطالعه حاضر که در کشتارگاه شهرستان دامغان و در طی یک دوره شش ماهه یعنی فصول پاییز و زمستان سال ۱۴۰۲ بعمل آمد، از مجموع ۱۱۵ نفر شتر نر نحر شده که تحت معاینات و بازرسی‌های پس از کشتار قرار گرفته شدند، در مجموع ۲۱ لاشه واجد یک یا بیش از یک لزیون ماکروسکپی

در ریه تشخیص و ریه‌های دارای لزیون ضبط و از چرخه مصرف حذف شدند. از موارد مثبت با لزیون های ماکروسکپی ابتدا ماکروگراف های لازم تهیه و سپس برای معاینه بیشتر، یک یا چند برش در بافت ریه نیز داده شد.

هیستوپاتولوژی

سپس بخش‌هایی از ریه آسیب دیده در ابعاد مناسب در فرمالین بافر ۱۰٪ فیکس شدند. پس از تثبیت از طریق روش‌های معمول بلوک‌های پارافینی تهیه گردید. مقاطع با ضخامت ۵ میکرون تهیه و به روش H&E رنگ آمیزی (۱۸) و برای برسی اینسدانس و درصد الگوهای مختلف لزیون های ریوی و شناسایی وجود اجسام گنجیدگی ویروسی اسیدوفیلیک و تغییرات هیستوپاتولوژیک اختصاصی (شکل گیری سینسیشیال) تحت مطالعه میکروسکپ نوری قرار گرفتند.

ایمونوهیستوشیمی

تکنیک رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی (IHC) در مجموع روی ۱۵ ریه، که مشخصات میکروسکپی شامل برونشیت، برونشیولیت، ضخیم شدن دیواره بین آلوئولی بدلیل ارتشاح سلول‌های التهابی، هیپرپلازی لنفوئیدی، هیپرپلازی سلول‌های اپیتلیوم توپوشی برونش ها و برونشیول ها، اجسام گنجیدگی اسیدوفیلیک در اپیتلیوم توپوشی برونش ها و برونشیول ها و شکل گیری سلول‌های سینسیشیال را نشان دادند، و نه در ریه‌های مبتلا به پنومونی انگلی و برونکو پنومونی های چرکی و نزله‌ای (n=۶)، به اجرا در آمد.

مقاطع بافتی جهت بررسی بیان آنتی ژن BRSV و با استفاده از تکنیک‌های متداول avidin-biotin-peroxidase complex تحت پروسه ایمونوهیستوشیمی [Anti-Respiratory Syncytial Virus antibody (ab20745) 1/100 dilution, Abcam, Cambridge, UK]، قرار گرفتند. مقاطع بافتی انتخاب شده برای رنگ آمیزی به روش ایمونوهیستوشیمی مطابق دستورالعمل شرکت سازنده پروسه شدند.

نتایج

از مجموع ۱۱۵ نفر شتر که تحت معاینات و بازرسی‌های پس از کشتار قرار گرفته شدند، در مجموع ۲۱ لاشه (۱۸/۲۶٪) واجد یک یا بیش از یک لزیون ماکروسکپی بود. لزیون های میکروسکپی عمده مشاهده شده در ریه شترهای نحر شده عبارت بودند از: پنومونی بینابینی و پنومونی برونکواینترستیشیال ۱۵ مورد (۷۱/۴۲٪) و برونکوپنومونی چرکی و نزله‌ای و پنومونی انگلی شامل کیست هیداتیک، کیست کلسیفه و حضور لارو انگل در مجاری تنفسی ۶ مورد (۲۶/۹٪)

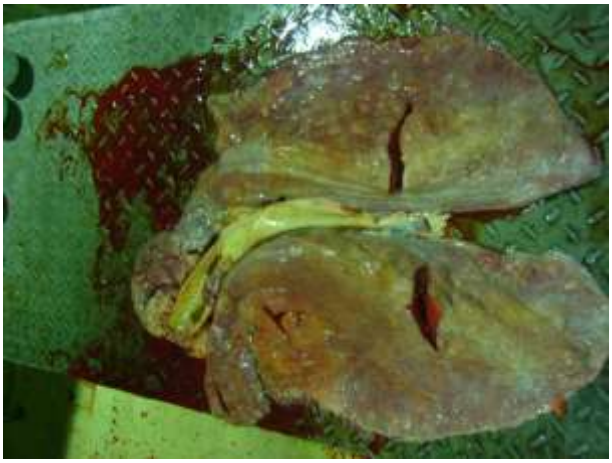
اگرچه شدت و میزان توسعه ضایعات پنومونی در نمونه‌های بررسی شده متفاوت بود، ولی خصوصیات میکروسکپی ضایعات مانند برونشیت، برونشیولیت، ضخیم شدن دیواره بین آلوئولی و ارتشاح سلول‌های التهابی، هیپرپلازی لنفوئیدی، هیپرپلازی سلول‌های اپیتلیوم توپوشی برونش ها و برونشیول ها، اجسام گنجیدگی اسیدوفیلیک در اپیتلیوم توپوشی برونش ها و برونشیول ها و شکل گیری سلول‌های سینسیشیال در ریه‌های مبتلا به پنومونی بینابینی و پنومونی برونکواینترستیشیال مشاهده شد (n= ۱۵)، و نه در ریه‌های مبتلا به پنومونی انگلی و برونکو پنومونی های چرکی و نزله‌ای (n=۶).

پنومونی بینابینی الگوی برجسته پنومونی بود که در ۷۱/۴۲٪ پنومونی ها مشاهده شد در حالیکه الگوهای پنومونی های انگلی و نزله‌ای و چرکی در ۲۶/۹٪ موارد پنومونی مشاهده گردید.

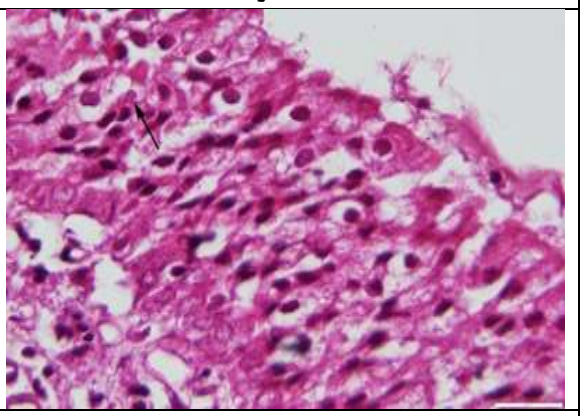
بدلیل افزایش ارتشاح لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها و تا حد کمتری بدلیل شکل گیری بافت همبند، تعداد زیادی از دیواره‌های بین آلوئولی به شکل نامنظمی ضخیم شده بودند. به علاوه دیگر ضایعات برجسته و مشخص عبارت بودند از

ارتشاح سلول‌های تک هسته‌ای در اطراف برونش ها و برونشیول ها بهمراه هیپرپلازی اپیتلیوم توپوشی برونشی و برونشیولی و هیپرپلازی لنفوئیدی در برونش ها و برونشیول ها و نواحی مجاور برخی دیواره‌های آلوئولی.

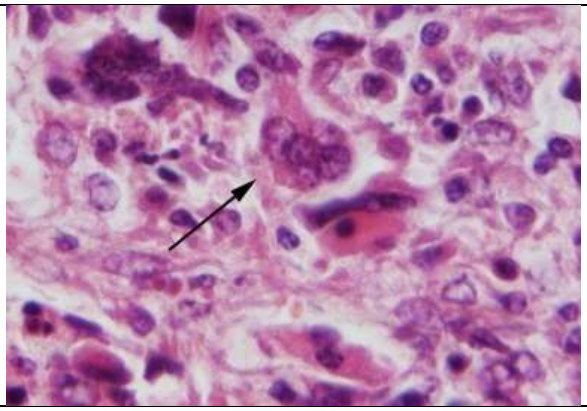
نگاره-۱: خط کشتار شتر در کشتارگاه دامغان



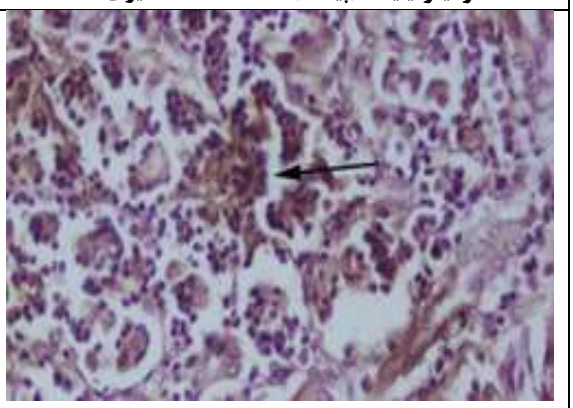
نگاره-۲: نمونه ریه شترهای کشتار شده



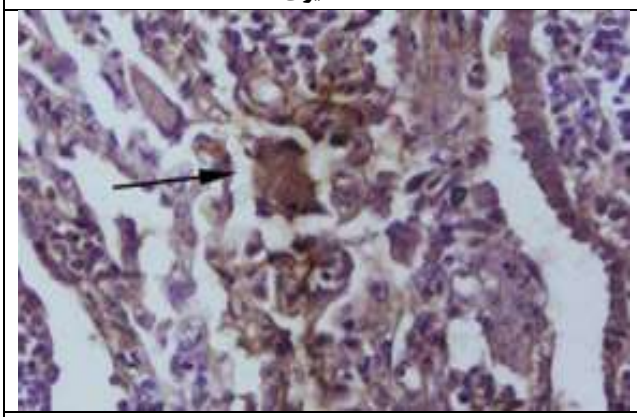
نگاره – ۳: شتر، بافت ریه. اجسام گنجیدیگ درون سیتوپلاسمی ائوزینوفیلیک (پیکان). ۱۰×، رنگ آمیزی H&E



نگاره – ۴: شتر، بافت ریه. شکل گیری سلول سینسیشیال (پیکان). ۴۰× رنگ آمیزی H&E



نگاره -۵: شتر، بافت ریه. RSV immunohistoposivity در لکوسیت های ارتشاح یافته و سلول های سینسیشیال شکل گرفته مشاهده می شود. ۱۰×، رنگ آمیزی IHC



نگاره – ۶: شتر، بافت ریه. RSV immunohistoposivity در لکوسیت های ارتشاح یافته و سلول های سینسیشیال شکل گرفته مشاهده می شود. ۴۰× رنگ آمیزی IHC

مجاری برخی برونشیول ها و آلوئول ها توسط اگزودای غنی از نوتروفیل پر شده بود، و تعداد کمی لنفوسیت و ماکروفاژ، علاوه بر نوتروفیل ها، در التهاب حضور داشتند. اجسام گنجیدگی درون سیتوپلاسمی و شکل گیری سلول‌های سینسیشیال در مقاطع رنگ آمیزی شده به روش H&E مشاهده شد (نگاره‌های ۳،۴)

حضور آنتی ژن‌های ویروس BRSV در ریه شترهای مبتلا به پنومونی بینابینی و پنومونی برونکواینترستیشیال با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی مورد تحقیق و بررسی قرار گرفت (n=۱۵). با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی، آنتی ژن BRSV در ۳ مورد از ۱۵ مورد (۲۰٪) ریه مبتلا به پنومونی بینابینی و پنومونی برونکواینترستیشیال شناسایی شد (نگاره‌های ۵،۶).

بحث

ویروس سنسیشیال تنفسی RSV یکی از شناخته شده ترین عوامل عفونت‌های تنفسی در انسان و دیگر گونه‌های مختلف حیوانی است (Toker et al., 2021).

Yesilbag و Güngr (2008) از این ویروس به عنوان مهمترین عامل عفونت‌های تنفسی در گاو نام برده‌اند. تعدد موارد بروز عفونت‌های تنفسی با عامل BRSV بسیار بالاست و این ویروس مسئول بروز بیش از ۶۰٪ موارد بیماریهای تنفسی در گله‌های شیری و بیش از ۷۰٪ موارد بیماریهای تنفسی در گله‌های گوشتی (Khder et al., 2024) می‌باشد.

Sakhaee و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعات سرولوژیک خود در استان کرمان به آلودگی ۱۰۰ درصدی گاوهای شیری این استان به ویروس RSV اشاره داشته‌اند.

موارد شیوع آلودگی به BRSV از بسیاری از کشورهای اروپایی، آمریکا و همچنین از دیگر نقاط جهان گزارش شده است (Shuo et al.,۲۰۲۱).

ویروس‌هایی مانند BRSV و BHV-1 می‌توانند به صورت عوامل ویروسی منفرد گاها بیماری شدیدی را در حیوانات بوجود بیاورند، و همچنین می‌توانند زمینه ابتلای حیوانات به عفونت‌های باکتریایی ریه را بوجود بیاورند (Sakhaee et al., 2009; Larsen, 2000).

اگرچه در ایران عفونت‌های تنفسی به عنوان یکی از مهمترین موانع در مسیر تولیدات دامی شناخته شده است ولی تا کنون مطالعه خاصی به منظور بررسی نقش ویروس BRSV در ایجاد عفونت‌های تنفسی در شتر صورت نگرفته است.

در مطالعه حاضر برای اولین بار در کشور شناسایی آنتی ژن BRSV در ریه شترهای نحر شده در شهرستان دامغان شمال شرق ایران و با استفاده از تکنیک ایمنوهیستوشیمی گزارش شده است. نتایج تحقیق حاضر توانسته است جایگاه نقش این ویروس در بروز عفونت‌های تنفسی در این گونه دامی را نشان دهد.

به لحاظ میکروسکپی ضایعات مشخصه پنومونی عبارتند از برونشیت، برونشیولیت، هیپرپلازی سلول‌های اپیتلیوم توپوشی برونش ها و برونشیول ها ضخیم شدن دیواره بین آلوئولی و ارتشاح سلول‌های التهابی، هیپرپلازی لنفوئیدی، اجسام گنجیدگی اسیدوفیلیک در اپیتلیوم توپوشی برونش ها و برونشیول ها و شکل گیری سلول‌های سینسیشیال که در ریه‌های مبتلا به پنومونی بینابینی دیده می‌شوئ. شکل گیری سلول‌های سینسیشیال یا اجسام گنجیدگی با عامل ویروس، در مطابقت با آنچه که در مطالعات قبلی در مورد پنومونی های با منشاء BRSV در بز شرح داده شده بود (Jamshid and Ozmen., 2018; Nefedchenko et al., 2020; Ceribasi et al., 2013; Öner et al., 2018) در مطالعه پیش رو نیز مشاهده گردید.

پیش از این Ceribasi و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعات خود به عدم مشاهده سلول‌های سینسشیال یا اجسام گنجیدگی درون سیتوپلاسمی با عامل ویروس اشاره داشتند.

شکل گیری اجسام گنجیدگی و سلول‌های سینسیشیال در ریه‌های نشخوارکنندگان مبتلا به عفونت‌های طبیعی و تجربی با ویروس BRSV که نشانگر وقوع ضایعات ویروسی اختصاصی می‌باشند به فاکتورهای متعددی از قبیل ویرولنسی عامل پاتوژن، مقدار ویروس، طول دوره عفونت، سن و گونه حیوان بستگی دارد. بعلاوه ناپدید شدن این ضایعات ویروسی اختصاصی نیز زمانی رخ می‌دهد که عفونت‌های باکتریایی ثانویه شکل بگیرند (Ceribasi et al., 2013; Öner et al., 2018). Caswell و همکاران (2007) و Gulbahar و همکاران (۲۰۰۳) در مطالعات خود گزارش دادند که تشخیص عفونت‌های با منشاء BRSV بر پایه یافته‌های ماکروسکپی، یافته‌های هیستوپاتولوژیک، و شناسایی عوامل ویروسی با استفاده از تکنیک‌های ایمونوهیستوشیمی استوار می‌باشد. همچنین سایر محققین نیز در مطالعات خود گزارش داده‌اند که PCR، کشت سلولی و تکنیک‌های سرولوژیک نیز می‌توانند مفید باشند (Fulton et al., 2016; McGinley et al., 2022).

تحقیقات قبلی با هدف تعیین و شناسایی وقوع و میزان شیوع عفونتهای با منشاء BRSV در شتر دو کوهانه که معمولاً براساس تکنیک‌های سرولوژی و RSV seropositivity صورت گرفته است، میزان آلودگی ۲۷/۳٪، ۳۱/۶٪ و ۳۳/۵٪ را در بین جمعیت شترها در کشور سودان گزارش داده‌اند (Intisar et al., 2010).

با این حال بنا بر دانسته‌های مؤلف مطالعه‌ای مبنی بر استفاده از تکنیک‌های ایمونوهیستوشیمی برای نشان دادن آنتی ژن‌های BRSV در پنومونی شتر گزارش نشده است. با تلاش صورت گرفته در مطالعه حاضر آنتی ژن BRSV در ۳ مورد از ۱۵ مورد (۲۰٪) شترهای مبتلا به پنومونی بینابینی و برونکوپنومونی اینترستیشیال شناسایی شد. در مطالعات قبلی، Ceribasi و همکاران (۲۰۱۳) گزارش دادند که موارد مثبت ممکن است بدلیل غیرفعال شدن اپی توپ‌های ایمونوژنیک ویروسی در بافت‌های فیکس شده در فرمالین، به عنوان موارد منفی ارزیابی شوند.

در مطالعاتی (Jamshid and Ozmen, 2018) با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی به منظور شناسایی ویروس BRSV در بز نشان دادند که توانایی تعیین و شناسایی BRSV positivity در ریه‌های بز با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی می‌تواند نتیجه تثبیت سریع نمونه‌های بافتی در فرمالین و قالب گیری سریع آنها در بلوک‌های پارافینی باشد. در این صورت غیر فعال شدن اپی توپ‌های ایمونوژنیک ویروسی در نمونه‌های بافتی بوقوع نمی‌پیوندد. بر طبق نتایج حاصل از مطالعه پیش رو که به ظاهر اولین گزارش موجود از نوع خود در خصوص شناسایی آنتی ژنBRSV با استفاده از تکنیک رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی در بافت ریه شترهای دوکوهانه مبتلا به فرم طبیعی پنومونی در کشور می‌باشد، نشان داده شد که، ایمنوهیستوشیمی یک تکنیک قابل اعتماد در معاینه دقیق ساختارهای سلولی در نمونه‌های بافتی فیکس شده در فرمالین و قالب گیری شده در پارافین، برای یک تشخیص نهایی می‌باشد.

بنابراین، چنین نتیجه گیری می‌شود که، تکنیک ایمونوهیستوشیمی می‌تواند به عنوان یک تکنیک دقیق و مناسب برای تشخیص مستقیم عفونت‌های با منشاء RSV در شترهای دوکوهانه به کار رود.

نتیجه گیری: این که، آنتی ژن‌هایBRSV در نمونه‌های بافت ریه شترهای مبتلا به پنومونی بینابینی و پنومونی برونکواینترستیشیال در شهرستان دامغان به میزان ۲۰٪ شناسایی شد و نقش این ویروس در بوجود آوردن پنومونی بینابینی و

برونکواینترستیشیال پنومونی در شترهای این منطقه از اهمیت قابل توجهی برخوردار می‌باشد.

تشکر و قدردانی

انجام این تحقیق تماماً با هزینه شخصی و بدون کمک مالی نهاد یا سازمانی صورت گرفته است. ضمناً نویسنده بر خود واجب می‌داند کمال تشکر و قدردانی خود را نسبت به کارکنان زحمتکش کشتارگاه شهرستان گرمسار و آزمایشگاه تشخیصی سینا که به ترتیب در تهیه نمونه‌های کشتارگاهی و ارائه خدمات آزمایشگاهی همکاری لازم را داشتند بعمل آورد.

تعارض منافع : در این تحقیق هیچ گونه تعارض منافعی وجود ندارد

منابع

1. Almeida, R.S., Spilki,F.R., Roehe, P.M., Verinaud,L.M.C., Arns C.W. 2006 Bovine respiratory yncytial virus: immunohistochemichal detection in mouse and bovine tissues using a Mab against human respiratory syncytial virus. Arq. Bras Med. Vet. Zootec., **58** (6) 973-981. DOI: 10.1590/S0102-09352006000600001.
2. Al-Ruwaili MA., Khalil OM., Selim SA. 2012. Viral and bacterial infections associated with camel (Camelus dromedarius) calf diarrhea in North Province, Saudi Arabia. Saudi J Biol Sci.;19 (1),35–41. DOI: 10.1016/j.sjbs.2011.10.001. PMID: 23961160
3. Bakhesh Alhendi AA. Common diseases of camels (camelus dromedarius) in eastern province of Saudi Arabia. Pak Vet J. 2000;**2**(20):97–9.
4. Caswell, J.L., Williams, K. 2007. The respiratory system. In: Pathology of domestic animals, JUBB K.V.F., KENNEDY P.C. and PALMER N. 10th eds. Saunders Elsevier, Edinburgh, UK. pp.: 594-622.
5. Ceribasi, A.O., Ceribasi, S., Ozkaraca, M., OZER, H. 2013. Diagnosing Respiratory Syncytial Virus using Immunofluorescence and Immunohistochemistry methods in Caprine lungs with Bromchpneumonia. REVUE DE MÉDECINEVÉTÉRINAIRE 3 (12), 120-124.
6. Fulton, R.W., d'Offay, J.M. , Landis, C., Miles, D.G., Smith, R.A., Saliki, J.T., Ridpath, J.F., Confer, A.W., Neill, J.D., Eberle, R., Clement,T.J., Chase, C.CL., Burge, L.J. and Payton, M.E. 2016. Detection and characterization of viruses as field and vaccine strains in feedlot cattle with bovine respiratory disease *Vaccine*, **34**(30), 3478–3492.. DOI: 10.1016/j.vaccine.2016.04.020. PMID: 27108192
7. Gaffuri, A., Giacometti, M., Tranquillo, V.M., Magnino, S., Cordioli, P., Lanfranchi, P.,2006. Serosurvey of roe deer, chamois and domestic sheep in the central ItalianAlps. J. Wildl. Dis. **42** (3), 685–690. DOI: 10.7589/0090-3558-42.3.685. PMID: 17092903
8. Gebru M., Tefera G., Dawo F., Tessema TS. 2018. Aerobic bacteriological studies on the respiratory tracts of apparently healthy and pneumonic camels (Camelus dromedaries) in selected districts of Afar region, Ethiopia. Trop Anim Health Prod.;**50**(3),603–11. DOI: 10.1007/s11250-017-1476-4. PMID: 29147933
9. Gulbahar, M.Y., Cabalar, M., Erturk, A. 2003. Detection by immunoperoxidase tecnique of parainfluenza type-3 virus and respiratory syncytial virus antigens in naturally occuring pneumonia in lambs. Small Ruminant Research **108**(1-3):127-132. DOI:10.1016/j.smallrumres.2012.07.033
10. Intisar K.S., Ali Y.H., Khalafallab A.I., Mahasin E.A. Amin A.S. 2010. Respiratory syncytial virus infection of camels (Camelus dromedaries) Acta

Tropica **113**(2): 129-33. DOI: 10.1016/j.actatropica.2009.10.005. PMID: 19840769

11. Jamshid, K., Ozmen, O Immunohistochemical study on Respiratory Syncytial Virus antigen (RSV) in Pneumonic Goat Lungs Journal of Veterinary Microbiology, **14** (2): 2018
12. Kebedi FG, E. Studies on major respiratory diseases of camel (Camelus dromedarius) in northeastern Ethiopia. Afr J Microbiol Res.2010; **4**(14):1560–4.
13. Khder J. Hussain , Maab I. Al-Farwachi (2024) Comparative Evaluation between Nested RT-PCR and Mono-Screen Antigen ELISA for Diagnosis of Bovine Respiratory Syncytial Virus in Cattle Egypt. J. Vet. Sci. **55** (1), pp. 117-123.
14. Larsen, L.E. 2000. Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV): A review. Acta Veterinaria Scandinavica, **41**(1):1-24. DOI: 10.1186/BF03549652. PMID: 10920473
15. Li Y., Khalafalla AI., Paden CR., Yusof MF., Eltahir YM., Al Hammadi ZM. 2017. Identification of diverse viruses in upper respiratory samples in dromedary camels from United Arab Emirates. Plos One.**12**(9), 0184718. DOI: 10.1371/journal.pone.0184718
16. McGinley Joseph, Ryan Thwaites, Will Brebner, Lewis Greenan-Barrett, Jeroen Aerssens, Deniz ner, Louis Bont, Joanne Wildenbeest, Federico Martinón-Torres, Harish Nair . 2022. A Systematic Review and Meta-analysis of Animal Studies Investigating the Relationship Between Serum Antibody, T Lymphocytes, and Respiratory Syncytial Virus Disease *The Journal of Infectious Diseases*, 226 (1). 117–129. DOI: 10.1093/infdis/jiab370. PMID: 34522970
17. Nefedchenko, A.V., Glotov, A.G., Koteneva, S.V. and Glotova, T.I. 2020. Developing and Testing a Real- Time Polymerase Chain Reaction to Identify and Quantify Bovine Respiratory Syncytial Viruses. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 35 (3): 168-173. DOI: 10.3103/S0891416820030052. PMID: 33500598
18. Oguzhan, A., Sibel, Y. and Mehmet, E. 2014. Detection of respiratory viral antigens in cattle lung tissues by direct ELISA. *Animal and Veterinary Sciences*, **2**(5)**,** 146-149. DOI: 10.11648/j.avs.20140205.13
19. Öner, E.B. and Yeşilbağ, K. 2018. Seroprevalance of respiratory viruses and detection of persistent BVD virus infection in beef cattle (in Turkish) *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **65 (1)**, 1–7.
20. Sakhaee, E. Khalili, M. and Kazemi nia, S. Serological study of bovine viral respiratory diseases in dairy herds in Kerman province, Iran. Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University, Vol. 10, No. 1, Ser. No. **26**, 2009. DOI: 10.22099/IJVR.2009.1089
21. Shuo, Jia., Xin Yao., Yaqi Yang, Chao Niu, Yi Zhao, Xiaomei Zhang, Ronghui Pan, Xiaoxia Jiang, Sun Xiaobo, Xinyuan Qiao, Xueting Guan and Yigang Xu . 2021. Isolation, identification, and phylogenetic analysis of subgroup III strain of bovine respiratory syncytial virus contributed to outbreak of acute respiratory disease among cattle in Northeast China. Virulence, **12** (1), 404-414. DOI: 10.1080/21505594.2021.1872178.
22. Solís-Calderón, J.J., Segura-Correa, J.C., Aguilar-Romero, F., Segura-Correa, V. 2007 .Detection of antibodies and risk factors for infection with bovine respiratory syncytial virus and parainfluenza virus-3 in beef cattle of Yucatan. Mexico Prev. Vet. Med. **15**;82 (1–2), 102–110. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2007.05.013. PMID: 17590461

23. Toker, E.B. & Yeşilbağ, K. 2021. Molecular characterization and comparison of diagnostic methods for bovine respiratory viruses (BPIV- 3, BRSV, BVDV, and BoHV-1) in field samples in North western Turkey. *Tropical Animal Health Production*, **53**(1), 79. DOI: 10.1007/s11250-020-02489-y. PMID: 33409702
24. Turke Shawaf, Hans-Joachim Schuberth , Jamal Hussen. 2022. Immune cell composition of the bronchoalveolar lavage fluid in healthy and respiratory diseased dromedary camels BMC Veterinary Research, **18**: 353 DOI:10.1186/s12917-022-03446-7
25. Wareth G, Murugaiyan J, Khater DF, Moustafa SA. Subclinical pulmonary pathogenic infection in camels slaughtered in Cairo, Egypt. J Infect Dev Ctries. 2014;**8**(7):909–13. DOI: 10.3855/jidc.4810.PMID: 25022303
26. Yesilbag, K., Güngor, B., 2008. Seroprevalence of bovine respiratory viruses in North-Western Turkey. Trop. Anim. Health Prod. **40** (1), 55–60. DOI: 10.1007/s11250-007-9053-x. PMID: 18551779
27. Zuhair Bani Ismail Pneumonia in Dromedary Camels (Camelus dromedarius): A Review of Clinico-Pathological and Etiological Characteristics March 2017 Journal of Camel Practice and Research **24**(1),49-54. DOI: 10.5958/2277-8934.2017.00007.8

.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 21, Issue1,
Spring & Summer 2025

An Abattoir-Based Detection of Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) Antigen in Pneumonic Camel's (Camelus dromedaries) Lungs Using Histopathology and Immunohistochemistry

Keivan Jamshid
Department of pathology, Faculty of veterinary, Ga.C., Islamic Azad University, Garmsar, Iran
Received: 09 December 2025 Accepted: 16 January 2026

Extended Abstract

Introduction*: Respiratory syncytial virus (RSV) is one of the main viruses associated with respiratory infections in various animal species. Respiratory diseases continue to be a significant cause of economic loss to the camel farming industry due to reduced production, treatment costs, carcass removal at the slaughterhouse, and even the death of sick animals. The aim of this study was to investigate the occurrence of respiratory syncytial virus (RSV) infections in camels in Damghan county Semnan province.* ***Materials and methods****: For this purpose, lungs of 115 slaughtered male camels subjected to post slaughter examinations were macroscopically analysed in order to looking for pneumonia lesions. Among the 21 cases of pneumonia found, 15 cases were categorized as bronchointerstitial pneumonia and interstitial pneumonia while 6 cases were categorized as catarrrhal-purulent bronchopneumonia and verminous pneumonia according to histological criteria. With the exception of 6 cases in which parasitic pneumonia and catarrhal and purulent bronchopneumonia were observed, the remaining 15 cases with macroscopic lesions of interstitial pneumonia and bronchointerstitial pneumonia used for RSV antigen detection. Formalin-fixed and paraffin-embedded lung tissue samples were immunohistochemically stained using routine avidin-biotin-peroxidase complex techniques to detect RSV antigens.* ***Results****: Out of 15 cases with interstitial pneumonia and bronchointerstitial pneumonia, in 3 cases (20%) RSV viral antigens was detected, which were mainly found in the cytoplasm of bronchiolar epithelial cells, type II pneumocytes, and less frequently in the epithelial cells of bronchial glands, syncytial cells, alveolar macrophages, and lymphocytes and plasma cells.* ***Conclusions****: In conclusion, despite of the determining the prevalence of RSV viral antigens in pneumonic lungs of camel in Damghan County, a possible role of RSV in the induction of interstitial pneumonia in camel was suggested. This is the first report for the detection of RSV antigen, in camels in Iran.*

Keywords: Camel, Immunohistochemistry, Pneumonia, Respiratory syncytial virus

Corresponding Author: Keivan Jamshid
Adress: Assistant Professor, Department of veterinary pathology, Faculty of veterinary medicine, IAU Garmsar Branch, Semnan, Iran Email: keivan.jamshidi@iau.ac.ir