JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی/ دوره هفدهم، شماره اول، ۱۴۰۰، پیاپی ۴۲: ۷۲-۶۳

مقاله تحقیقی

شناسایی آنتی ژن آدنوویروس در ریه بزهای مبتلا به پنومونی با استفاده از ایمنوهیستوشیمی

کیوان جمشیدی*

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

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۲۰

چکیده

بیماری‌های مؤثر بر مجاری تنفسی گوسفند و بز یکی از مهم‌ترین فاکتورهای محدود کننده تولید در این گونه‌ها در سراسر جهان است. هدف اصلی از مطالعه پیش رو تعیین و شناسایی آنتی ژن آدنوویروس (AdV) در بافت ریه متعلق به بزهای مبتلا به پنومونی، تثبیت شده در فرمالین و قالب گیری شده در پارافین با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی می‌باشد. به همین منظور ریه‌های متعلق به ۴۰۲ رأس بز، که در مزارع دامپروری شهرستان‌های گرمسار و آرادان و مناطق اطراف پرورش داده شده و جهت کشتار بین ماه‌های فروردین تا شهریور سال ۱۳۹۸ به کشتارگاه نیمه صنعتی شهرستان گرمسار اعزام شدند مورد معاینات پس از کشتار قرار گرفتند. یافته‌های ماکروسکپیک پنومونی در لوب‌های مختلف بویژه در لوب‌های رأسی و کاردیاک ریه‌های متعلق به ۲۶ رأس بز (۶/۴۶٪) شناسایی و ثبت شد. درجات ملایم، متوسط و شدید کبدی شدن در ریه‌های پنومونیک به ترتیب در ۵۹/۸٪، ۲۶/۳٪، ۱۱/۶٪ ریه‌ها مشاهده شد. در بررسی میکروسکوپی، پنومونی در بزهای مورد مطالعه تحت عناوین پنومونی بینابینی (۱۵) (۵۷/۶۹٪)، برونکوپنومونی چرکی (۴) (۱۵/۳۸٪)، پنومونی برونکواینترستیشیال (۳) (۱۱/۵۳٪)، و پنومونی انگلی (۴) (۱۵/۳۸٪) طبقه بندی شدند. در مجموع با حذف ریه‌های مبتلا به پنومونی انگلی، ۲۲ ریه پنومونیک به منظور شناسایی آنتی ژن AdV تحت مطالعات میکروسکپی با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی قرار گرفتند. آنتی ژن AdV در ۳ مورد ریه (۱۳/۶۳٪) شناسایی شد. در نهایت حضور آنتی ژن AdV در بافت ریه بزها می‌تواند بیانگر این نکته باشد که پنومونی طبیعی در بزها ممکن است با منشاء AdV بوجود بیاید. بعلاوه تصور می‌شود AdV می‌تواند به عنوان یک عامل مستعد کننده برای بروز پنومونی های باکتریایی ثانویه عمل کند.

کلمات کلیدی: بز، ریه، آدنوویروس، ایمونوهیستوشیمی

*نویسنده مسئول: کیوان جمشیدی

آدرس: دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار

پست الکترونیک : drjamshhidi2000@gmail.com

مقدمه

بیماری‌های مجاری تنفسی گوسفند و بز یکی از مهمترین فاکتورهای محدود کننده تولید در این گونه‌های حیوانی بوده و به این ترتیب عامل ضررهای اقتصادی عمده‌ای بر صنعت پرورش نشخوارکنندگان کوچک در سطح جهان بشمار می‌آید (۱۸). در ایران ۱۲۸/۷ میلیون رأس واحد حیوانی (معادل یک رأس گوسفند بالغ) وجود دارد. تعداد گوسفند و بز در کشور به ترتیب معادل ۵۲/۲ و ۲۵/۹ میلیون رأس می‌باشد. مصرف سرانه گوشت قرمز، گوشت سفید، شیر و تخم مرغ به ترتیب ۱۲/۷، ۲۸/۴، ۱۱۵ و ۹/۸ کیلوگرم بازای هر فرد در سال می‌باشد (۲۲).

پرورش و تولید دام شغل و حرفه اصلی ساکنین مناطق روستایی شهرستان گرمسار (استان سمنان) می‌باشد. گوسفند و بز عمده گونه‌های دامی در این استان بشمار می‌آیند (۳۴). بدلیل تغذیه فقیر، فاکتورهای مدیریتی ضعیف و میزان شیوع بیماری‌های متنوع با منشاء ویروس، باکتری و انگل تولید کلی در مجموع در این حیوانات پایین است. پیامدهای اقتصادی این وضعیت فراوان بوده عبارتند از مرگ و میر همچنین مشاهده غیر مستقیم شناسه‌های همه گیری مانند افزایش زمان رسیدن به وزن بازار، ضریب تبدیل ضعیف، افزایش میزان حذف، لاشه ضعیف و لاغر، افزایش میزان حذف لاشه در کشتارگاه و صرف هزینه و زمان اضافی برای درمان و خدمات دامپزشکی (۳۴).

تحقیقات مختلف تأیید کرده‌اند که برخی ویروس‌های با منشاء گاوی می‌توانند سبب بروز عفونت‌های مجاری تنفسی در گوسفند و بز گردند (۶ و ۳۱). اگرچه این ویروس‌ها به ندرت شناسایی شده‌اند ولی نشان داده شده که بسیاری از ویروس‌های مرتبط با بیماری‌های دستگاه تنفسی گاوان در عفونت‌های طبیعی و تجربی دستگاه تنفس گوسفند و بز نقش داشته‌اند (۳۳).

عفونت‌های آدنوویروسی اغلب تحت کلینیکی بوده و این عفونتها عموماً در مجاری گوارشی و تنفسی رخ می‌دهند (۱۲). عفونت‌های طبیعی و تجربی با منشاء آدنوویروس در گوسفند و بز سبب بروز ضایعه‌هایی عمدتاً در مجاری تنفسی می‌شوند (۳ و ۳۰).

علاوه بر این، عفونت‌های تجربی در بره‌ها با منشاء آدنوویروس ها و BHV-1 نیز معمولاً ضایعه‌هایی را ایجاد می‌کنند و این ضایعه‌ها محدود به مجاری تنفسی هستند (۲، ۹، ۱۰، ۱۷). اگرچه سیر بیماری زایی آدنوویروس ها در گاوان به خوبی شناسایی و توصیف شده است (۶، ۲۱، ۲۵، ۲۶) ولی تاکنون موارد پنومونی طبیعی کمی با منشاء این عامل ویروسی در نشخوارکنندگان کوچک گزارش شده است (۸، ۲۴).

تخریب فعالیت مژک‌ها و کاهش چشمگیر مکانیزم پاک سازی موکوسیلیاری در مجاری تنفسی در عفونت‌های آدنوویروسی گزارش شده است (۸، ۱۱، ۲۱).

مطالعات هیستوپاتولوژیک روتین (معمولی) در تشخیص عفونت‌های آدنوویروسی ناکافی گزارش شده‌اند (۶). تشخیص قطعی این عفونت از طریق جداسازی ویروس در کشت سلولی، PCR، میکروسکپ الکترونی، تست خنثی سازی ویروس، فلورسنت آنتی بادی و ایمونوهیستوشیمی صورت می‌گیرد (۸، ۱۲، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۹).

هدف از این تحقیق شناسایی میزان شیوع آنتی ژن آدنوویروسی با استفاده از تکنیک رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی روی نمونه‌های بافت ریه فیکس شده در فرمالین و قالب گیری شده در پارافین، متعلق به

بزهـای مبـتلا بـه پنومـونی و کشـتار شـده در کشـتارگاه شهرستان گرمسار، استان سمنان، می‌باشد.

مواد و روش کار

جمع آوری نمونه

ریـه‌هـای متعلـق بـه ۴۰۲ رأس بزکـه در دامـداری‌هـای شهرسـتان‌هـای گرمسـار و آرادان و روسـتاهای تابعـه پرورش یافته و بین ماه‌هـای فـروردین تـا شـهریور سـال ۱۳۹۸ جهت ذبح به کشتارگاه صنعتی شهرستان گرمسار اعزام شده بودند مورد مطالعـه و بررسـی قـرار گرفتنـد. نمونه‌های بافتی از ریه‌های آسیب دیده اخذ و با رعایـت شرایط استاندارد نمونه برداری در حجم مناسب فرمـالین بافر ۱۰٪ تثبیت شدند.

مطالعات ماکروسکپی و هیستوپاتولوژی

شدت پنومونی در تمام لوب‌های ریوی پیرو روش ارائـه شده توسط Çeribasi و همکـاران (۲۰۱۶) و بـر اسـاس میزان گسترش و توسعه کبدی شدن درجه بنـدی بنـدی شـد (۸). بـر اسـاس ضـایعه‌هـای مشـاهده شـده روی لوب‌های ریوی و حجم لوب‌های درگیر: کمتـر از ۱۰٪، بـین ۱۰٪ و ۲۰٪، بیشـتر از ۲۰٪ بـه ترتیـب بـه ملایـم، متوسط و شدید طبقه بندی شدند.

نمونه‌های بـافتی اخـذ شـده از ریـه‌هـای بـا ضـایعه‌هـای ماکروسکپی به مـدت ۷۲ سـاعت در فرمـالین بـافر ۱۰٪ تثبیت، و پـیش از مقطـع گیـری در بلـوک‌هـای پارافینـه قالب گیری شدند. سپس مقاطع بـافتی بـه روش معمـول هماتوکسـیلین ائـوزین رنـگ آمیـزی و در نهایـت بـا اســتفاده از میکروســکپ نــوری متــداول و بــا بزرگنمایی‌های مختلف مورد مطالعه قرار گرفتند.

روش رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی

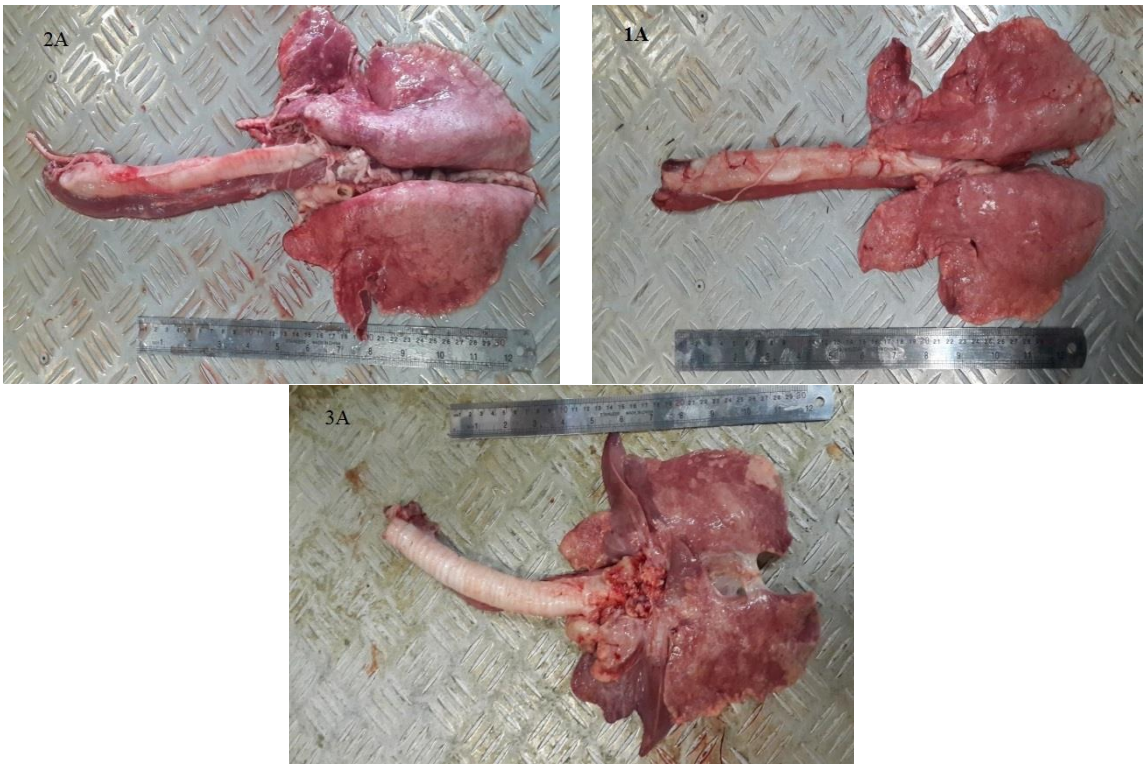
تکنیـک رنـگ آمیـزی ایمونوهیستوشـیمی در مجمـوع روی ۲۲ نمونه ریه که در مطالعات میکروسـکپی تحـت عنــاوین برونکوپنومــونی چرکــی (n=۴) (۱۵/۳۸٪)، پنومونی برونکواینترستیشیال (n=۳) (۱۱/۵۳٪)، پنومونی بینـابینی (n=۱۵) (۵۷/۶۹٪)، طبقـه بنـدی شـدند و نـه ریه‌های مبتلا به پنومونی کرمی (n=4) اعمال شد به کار گرفته شد.

مقـاطع بـافتی جهـت بررسـی بیـان آنتـی ژن AdV و بـا اســتفاده از تکنیــک‌هــای متــداول 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 ایمونوهیستوشـیمی مطـابق دسـتورالعمل شرکت سازنده پروسه شدند.

نتایج

یافته‌های پاتولوژی ماکروسکپی

در مجمـوع ریـه‌هـای متعلـق بـه ۴۰۲ رأس بـز تحـت مطالعـات ماکروسـکپی بعـد از مـرگ قـرار گرفـت و و ضایعه‌های پنومونی در لوب‌های مختلف بویژه لوب‌های قــدامی و کاردیــاک در ۲۶ رأس حیــوان (۶/۴۶٪) شناسایی و تشخیص داده شد. میزان آسیب‌هـای ملایـم، متوسـط و شـدید مشـاهده شـده در لـوب‌هـای مختلـف ریه‌هـای مبـتلا بـه پنومـونی بـه ترتیـب عبـارت بودنـد از ۵۹/۸٪، ۲۶/۳٪ و ۱۱/۶٪ (نگاره- ۱).

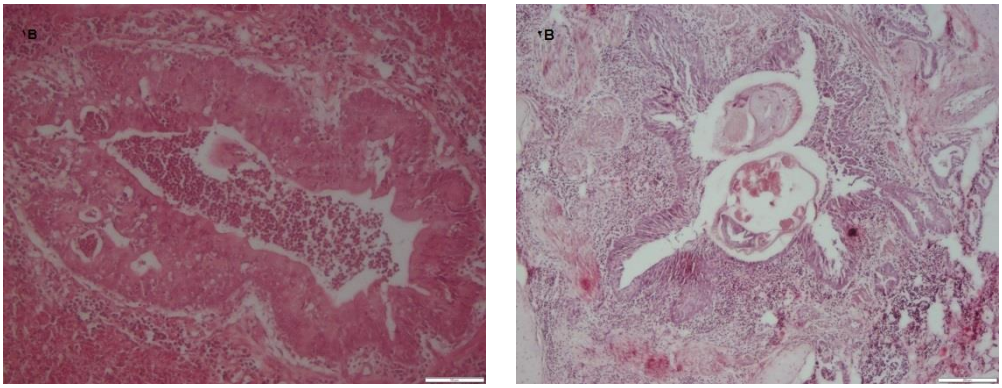


نگاره -۱: درجه بندی شدت پنومونی در لوب های ریوی بر اساس میزان گسترش و توسعه کبدی شدن. 1A: کمتر از ۱۰٪، ملایم، 2A: بین ۱۰٪ و ۲۰٪، متوسط، 3A:بیشتر از ۲۰٪ شدید.

یافته‌های هیستوپاتولوژی

در مطالعات میکروسکپی پنومونی ها در بز تحت عناوین پنومونی بینابینی (n= ۱۵) (۵۷/۶۹٪)، برونکوپنومونی چرکی (n= ۴) (۱۵/۳۸٪) و پنومونی برونکواینترستیشیال (n= ۳) (۱۱/۵۳٪) و پنومونی انگلی (n= ۴) (۱۵/۳۸٪) طبقه بندی شدند (نگاره -۲).

برونکوپنومونی چرکی، پنومونی برونکواینترستیشیال و پنومونی بینابینی در ۲۲ مورد (۵/۴۷٪) ریه بزها شناسایی شدند که به منظور حضور آنتی ژن آدنوویروس با استفاده از روش رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی مورد مطالعه قرار گرفتند. ولی ریه‌های مبتلا به پنومونی انگلی (n= ۴) مورد استفاده قرار نگرفتند.

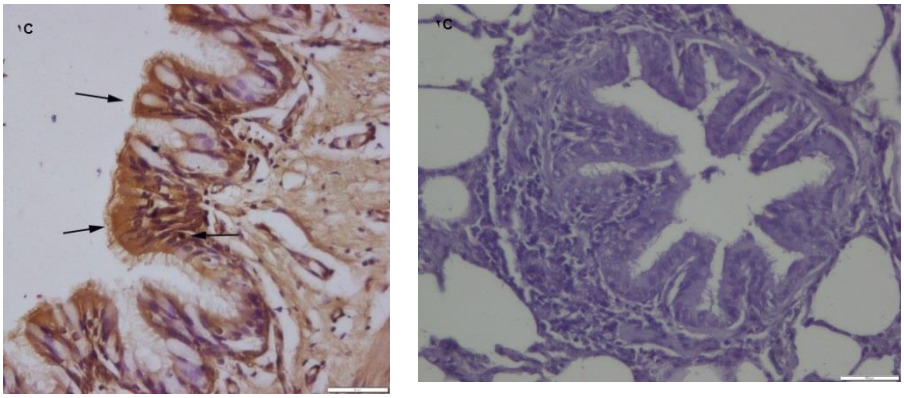


نگاره -۲: یافته های هیستوپاتولوژیک در ریه های مطالعه شده. 1B: برونکوپنومونی چرکی. 2B: پنومونی انگلی

یافته‌های رنگ آمیزی ایمنوپراکسیداز (IP)

از ۲۲ ریه بز مبتلا به پنومونی، آنتی ژن آدنوویروس در ۳ مورد (۱۶/۶۳٪) شناسایی و تشخیص داده شد. رنگ آمیزی مثبت عموماً در نواحی پنومونیک مشاهده شد. رنگ آمیزی ویژه و اختصاصی IHC مرتبط با آنتی ژن‌های ویروسی عموماً با ظاهر گرانولار و در سیتوپلاسم سلول‌های اپیتلیومی در مجاری هوایی مشاهده شدند. اگرچه رنگ پذیری ایمونوهیستوشیمیایی شدید آنتی ژن‌های آدنوویروسی در اپیتلیوم برونشیولی یافت شد، ولی در اپیتلیوم آلوئولی ریه‌های پنومونیک بزها کمتر بود.

بعلاوه آنتی ژن‌های آدنوویروسی در سلول‌های لنفوئیدی وابسته به برونشیول نیز شناسایی شد. رنگ پذیری ایمونوهیستوشیمیایی مثبت آدنوویروسی در اپیتلیوم برونشیولی و آلوئولی مشاهده شد. هیچ گونه رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی مثبت در نمونه بافت اخذ شده از ریه بزهای سالم، تحت عنوان کنترل مثبت، مشاهده نشد. (نگاره-۳).



نگاره -۳: یافته های رنگ آمیزی ایمنوپراکسیداز(IP). 1C. آنتی ژن های ویروسی عموما با ظاهر گرانولار و در سیتوپلاسم سلول های اپیتلیومی در مجاری هوایی مشاهده شدند. 2C. رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی مثبت در نمونه بافت اخذ شده از ریه بزهای سالم، تحت عنوان کنترل مثبت، مشاهده نشد.

بحث

در مطالعه حاضر آنتی ژن‌های آدنوویروس در ۳ مورد بز (۱۳/۶۳٪) با استفاده از روش IHC شناسایی شدند. بعلاوه نتایج این مطالعه در نوع خود اولین گزارش شناسایی آنتی ژن‌های ویروسی به روش IHC در بافت ریه بزهای مبتلا به پنومونی طبیعی در استان سمنان می‌باشد (۲۵، ۲۶).

مطالعات گذشته نشان دادند که تکنیک فلورسنت آنتی بادی (FAT)، بدلیل اینکه آماده سازی و مطالعه نمونه‌ها در مدت زمان کوتاهی انجام می‌پذیرد و نتایج سریعی بدست می‌دهد، از مزیت بالایی برخوردار است (۱۴، ۱۵، ۲۷). ولی بدلیل عدم تعیین دقیق جزئیات مرفولوژیک در بافت این تکنیک یک تکنیک محدودی بشمار می‌آید (۳۲).

اگر چه پردازش نمونه بافتی فیکس شده در فرمالین زمان بر است ولی نتایج هیستوپاتولوژیک گذشته نگر نشان می‌دهد که مقاطع فیکس شده در فرمالین نسبت به مقاطع انجمادی بدلیل شناسایی دقیق نوع سلول و بافت ارجحیت دارد. در حالیکه اپیتوپ های ایمونوژنیک و بسیاری از آنتی سراهای مورد استفاده برای تشخیص IHC در نمونه‌های فیکس شده بدلیل اثر مخرب فیکساسیون غیر فعال می‌شوند (۲۰).

بعلاوه بلحاظ اپیدمیولوژیک شناسایی موقعیت آنتی ژن ویروسی در اپیتلیوم مجاری تنفسی در بز به منظور بررسی گسترش و انتقال آنتی ژن‌ها به حیوانات حساس

از طریق ترشحات بینی و سرفه حائز اهمیت می‌باشد (۶). در مطالعات قبلی عفونت‌های آدنوویروسی تجربی بلحاظ میکروسکپی با برونشیولیت پرولیفراتیو، دژنرسانس و کنده شدن یا هیپرپلازی اپیتلیوم برونشیولی و پنومونوسیت تیپ II، آتلکتازی، ارتشاح لنفوسیتی، ماکروفاژ و نوتروفیل، ضخیم شدن دیواره بین آلوئولی و شکل گیری گنجیدگی‌های درون اندوتلیومی و درون اپیتلیومی در نشخوارکنندگان گزارش شده‌اند (۴، ۱۰، ۱۱، ۲۳، ۳۱).

یافته‌های هیستوپاتولوژیک مطالعه حاضر با نتایج مطالعات گذشته، به استثنای شکل گیری اجسام گنجیدگی، مطابقت دارد. مطالعات اولیه نشان دادند که شناسایی خاص ضایعه‌های پنومونیک ویروسی از قبیل اجسام گنجیدگی در عفونت‌های آدنوویروسی تجربی می‌تواند به فاکتورهای متعددی از قبیل سن و گونه حیوانی، ویرولنسی عامل ویروسی، مقدار ویروس، دوره عفونت و حضور عفونت‌های باکتریایی ثانویه بستگی داشته باشد (۹، ۱۰، ۱۱).

لذا تشخیص دقیق پنومونی با عامل آدنوویروسی باید با استفاده از تکنیک‌های PCR، کشت، میکروسکپ الکترونی، FAT،IFAT و IHC صورت پذیرد (۵، ۱۰). بعلاوه عدم شناسایی و تشخیص ویروس و آنتی ژن ویروس در موارد استفاده از تکنیک‌های میکروسکپ الکترونی و روش رنگ آمیزی ایمونوفلورسنت ممکن است بدلیل غلظت پایین ویروس در ضایعه‌های بافتی باشد (۱۰).

بررسی‌های گذشته با استفاده از آدنوویروس گاوی برای شناسایی آنتی بادی‌های آدنوویروسی در بز در ایران (۱)، هند (۱۳) و ایالات متحده (۱۶) میزان عفونت آدنوویروسی پایینی را نشان می‌دهند.

اگرچه میزان seropositivity آدنوویروسی در بزهای ناحیه Marmara در ترکیه ۵/۲٪ گزارش شده (۲۸) و این میزان در غزال‌های (*Gazelle subgutturosa*) منطقه Ceylanpinar ترکیه با استفاده از روش الیزا ۱۱٪ شناسایی شد (۱۹).

در مطالعه دیگری که در استان Elazig ترکیه و روی گاوها صورت گرفت میزان شیوع آلودگی به ویروس AdV با استفاده از تکنیک‌هایIHC وDFAT به ترتیب ۵/۲۶٪ و ۶/۸۸٪ بود. وقتی همه داده‌های اخذ شده تا کنون در خصوص AdV مورد مطالعه و بررسی قرار می‌گیرد می‌توان چنین استنباط کرد (۷) که بکارگیری تمام معیارهای سریع پیش گیری برای کنترل این عفونت در استان سمنان ضروری بنظر می‌رسد.

نتیجه گیری

در مجموع در مطالعه حاضر آنتی ژن AdV با استفاده از روش IHC در ریه بزهای پنومنیک ۱۳/۶۳٪ شناسایی شد. حضور آنتی ژن‌های ویروسی در بافت ریه بزها نشان می‌دهد پنومونی های طبیعی می‌توانند توسط آدنوویروس ها یا دیگر آدنوویروس های با اختصاصیت گونه‌ای در منطقه مورد مطالعه ایجاد شوند. بعلاوه تصور می‌شود بزها نیز ممکن است نقش مهمی در انتقال این ویروس به گاوان نیز داشته باشند.

تشکر و قدردانی

نویسنده بر خود واجب می‌داند از همکاری کارکنان کشتارگاه و اداره دامپزشکی شهرستان گرمسار که امکانات نمونه برداری را فراهم ساختند تشکر و قدردانی بنماید.

منابع

1) Afshar, A. (1969): The occurence of precipitating antibodies to bovine adenovirus in sera of farm animals and man in Iran. *Veterinary Record***. 84**: 571-572.
2) Belak, S., V. Palfi, V. Palya (1976): Adenovirus infections in lambs, I. Epizootiology of the disease. *Zentralbl Veterinarmed B*. **23**: 320-330.
3) Belak, S., V. Palfi (1974): An adenovirus isolated from sheep and its relationship to type 2 bovine adenovirus. *Archiv für die gesamte Virusforschung* . **46**: 366-369
4) Belak, S., F. Vetesi, V. Palfi, L. Papp (1980): Isolation of a pathogenic strain of ovine adenovirus type 5 and a comparison of its pathogenicity with that of another strain of the same serotype. *Journal of Comparative Pathology***. 90**: 169-176.
5) Biswas, S., S. Bandypadhyay, U. Dimiri, P. H. Patra (2013): Bovine herpesvirus-1 (BHV-1) - a re-emerging concern in livestock: a revisit to its biology, epidemiology, diagnosis, and prophylaxis. *Veterinary Quarterly*. **33**: 68-81.
6) Caswell, J., K. Williams (2007): Respiratory system. In: Jubb, Kennedy, and Palmers Pathology of Domestic Animals (Maxie, M., Ed.), Edinburgh, UK. Elsevier, pp. 594-622.
7) Ceribasi, A. O., M. Ozkarca, S. Ceribaci, H. Ozer (2014): Histopathologic, immunoperoxidase and immunofluorescent examinations on natural cattle pneumonia originated from Parainfluenza type 3, Respiratory Syncytial virus, Adenovirus type 3 and Herpesvirus type 1. *Revu e Med. Vet*. **165:** 201-212.
8) Çeribasi Ali O., Çeribasi Songül, and Ozkaraca Mustafa. (2016). Immunohistochemical detection of bovine herpesvirus type 1 and bovine adenovirus type 3 antigens in frozen and paraffinized lung sections of pneumonic sheep and goats. *VETERINARSKI ARHIV*. **86:** 9-21.
9) Cutlip, R. C., H. D. Lehmkuhl (1983): Experimental infection of lambs with ovine adenovirus isolate RTS-15 1: Lesions. *American Journal of Veterinary Research*. **44:** 2395-2402**.** PMID: 6318616
10) Cutlip, R. C., H. D. Lehmkuhl (1986): Pulmonary lesions in lambs experimentally infected with ovine adenovirus 5 strain RTS-42. *Veterinary Pathology*. **23:** 589-593.
11) Cutlip, R. C., H. D. Lehmkuhl, K. A. Brogden, N. J. Hsu (1996): Lesions in lambs experimentally infected with ovine adenovirus serotype 6 and *Pasteurella hemolytica*. *Journal of Veterinary Diagnostic Invest*. **8**: 296-303.
12) Debey, B. M., H. D. Lehmkuhl, C. Chard Bergstrom, L. A. Hobbs (2001): Ovine adenovirus serotype 7-associated mortality in lambs in the United States. *Veterinary Pathology*. **38:** 644 - 648.
13) Debey, S. C., D. V. Joshi, S. N. Sharma (1985): Serological evidence for ovine adenovirus antibodies in sheep, goats and bovine in Punjab. *Indian Journal of Animal Sciences.* **55:** 652-653.
14) Edwards, S., H. White, R. H. Newman, P. Nixon (1988): A veterinary services scheme for the rapid diagnosis of viral infections in ruminants, using immunofl uorescence. *State Veterinary Journal*. **42:** 41-47.
15) Forghani, B. (2010): Diagnosis by viral antigen detection. In: Lennettes Laboratory diagnosis of

viral infections. (Jerome, K. R., Ed.), *Informa Healthcare*, pp. 113-132.

16) Fulton, R. W., M. M. Downing, H. V. Hagstad (1982): Prevalence of bovine herpes virus-1, bovine viral diarrhea, parainfl uenza-3, bovine adenoviruses-3 and -7 and goat respiratory syncytial viral antibodies in goats. *American Journal of Veterinary Research***. 43:** 1454-1457.
17) Giuliani, S., R. Sharma (2013): Experimental infection of lambs with bovine herpesvirus type-1 (BHV-1). *Veterinary Quarterly*. **33**:68–81, http://dx.doi.org/10.1080/01652176.2013.799301
18) Gulbahar Y. M., Cabalar. M., Erturk A. (2003) Detection by immunoperoxidase technique of parainfluenza type-3 virus and respiratory syncytial virus antigens in naturally occurring pneumonia in lambs. *Yyu. Vet. Fak. Derg*. 13: 74-77. DOI: 10.17094/ataunivbd.364602
19) Gur S., T. Aydinoglu, Y. Akca (2008): Serologic investigation of respiratory viruses in captive Goitred Gazella (*Gazella subgutturosa subgutturosa*). *Revu e Med. Vet*. **159:** 221-223.
20) Haines, D. M., B. J. Chelack (1991): Technical considerations for developing enzyme immunohistochemical staining procedures on formalin-fixed parafin-embedded tissues for diagnostic pathology. *Journal of Veterinary Diagnostic Invest*. **3**: 101-112. https://doi.org/10.1177/104063879100300128
21) Jericho, K. W. F. (1983): Histological changes in the respiratory tract of calves exposed to aerosols of bovine herpesvirus 1 and *Pasteurella haemolytica*. *Journal of Comparative Pathology***. 93**: 73-82. doi: 10.1016/0021-9975(83)90044-0.
22) Karami, M. Evaluation and comparison of sheep housing characteristics on performance in village management system. *Journal of Ruminant Researche.* 1: 87-91
23) Lehmkuhl, H. D., R. C. Cutlip, J. T. Meehan, B. M. Debey (1997): Pathogenesis of infection induced by an adenovirus isolated from a *goat. American Journal of Veterinary Research*. **58:** 608-611**.**
24) Mahmoud, M. A., S. A. Ahmed (2009): Prevalence of bovine herpes virus-1 in sheep and goats in Egypt. *Global* Veterinaria. **3:** 472-479.
25) Narita, M, K. Kimura, N. Tanimura, T. Tsuboi (2000): Pneumonia induced by endobronchial inoculation of calves with bovine herpesvirus 1. *Journal of Comparative Pathology.* **122:** 185-192**.** PMID: 10684687 DOI: 10.1053/jcpa.1999.0358
26) Narita, M., M. Yamada, T. Tuboi, K. Kawashima (2003): Bovine Adenovirus Type 3 Pneumonia in Dexamethasone-treated Calves. *Veterinary Pathology*. **40:** 128-135. https://doi.org/10.1354/vp.40-2-128
27) Nettleton, F., J. A. Herring, A. J. Herring (1983): Evaluation of an immunofluorescent test for the rapid diagnosis of field infections of infectious bovine rhinotracheitis. *Veterinary Record***. 112:** 298-300. PMID: 6302972 DOI: 10.1136/vr.112.13.298
28) Okurgumusova, S., Y. Akca (2002): Survey for antibodies against ovine adenoviruses (OAV-1,2,3,5) and bovine adenoviruses (BAV-1,2,3) in goats of Marmara region. *Veterinary Journal*. Ankara

Univ. **49**: 125-128**.** PMID: 8214895

29) Okurgumusova, S., Z. Yazici, H. Albayrak, D. Cakeroglu (2007): Seroprevalence of bovine viral respiratory diseases. *Acta veterinaria*. (Beograd) **57:** 11-16 DOI: 10.2298/AVB0701011O

30) Rushton, B., J. M. Sharp (1977): Pathology of ovine adenovirus type 4 infection in SPF Iambs: pulmonary and hepatic lesions. *Journal of Pathology***. 121:** 163-167.

31) Sharp, J. M., P. F. Nettelton (2007): Acute respiratory virus infections. In: Diseases of Sheep. (Aitken I. D., Ed.), Blackwell Publishing, pp. 207-208

32) Stevenson, R. G. (1969): Immunofluorescence studies of parainflunza 3 virus in the lungs of lambs. *Journal of Comparative Pathology.* **79:** 483-490. PMID: 4310873 DOI: 10.1016/0021-9975(69)90068-1

33) Thiry, J., V. Keuser, B. Muylkens, F. Meurens, S. Gogev, A. Vanderpalsschen, E. Thiry (2006): Ruminant alpha herpesviruses related to bovine herpesvirus 1. *Veterinary Research.***121**: 145-149 DOI: https://doi.org/10.1051/vetres: 2005052

34) Valizadeh R. 2010. Iranian sheep and goat industry at a glance. Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. P.O. Box: 91775-1163,