مجله میکرب شناسی پزشکی ایران
سال ۴ شماره های ۱و۲، بهار و تابستان ۱۳۸۹، صفحات۸۶-۸۰

بررسی آلودگی گاوداری‌های استان ایلام به ویروس سینسیتیال تنفسی

علی محمد بهرامی، مرتضی شمسی*، رضاهوشمندفر

آموزشکده دامپزشکی، دانشگاه ایلام
نویسنده رابط: مرتضی شمسی ، آموزشکده دامپزشکی، دانشگاه ایلام
تلفن: ۰۸٤۱-۲۲۲٤۳۰۸ **shamsi_ilam@yahoo.com**

تاریخ دریافت مقاله:۸۸/۳/۲۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/٦/۱۰

چکیده:

زمینه و اهداف: عفونت ناشی از ویروس سینسیتیال تنفسی گاو (BRSV : Bovine respiratory syncytial virus) بیشتر در گوساله‌های از شیر گرفته شده و گوساله‌های جوان و دام‌هایی که در محیط بسته نگهداری می-شوند، دیده می شود. در موارد حاد بیماری، برونکوپنمونی عارض می‌شود وموجب مرگ دام می گردد. هدف از انجام این مطالعه تعیین شیوع آلودگی ویروس سینسیتیال تنفسی و میزان آنتی بادی ضد BRSV در گاو داری‌های استان ایلام بود.

روش بررسی: این مطالعه در طول یک سال (پاییز ۱۳۸٦ لغایت پاییز ۱۳۸۷)، با خون گیری از ٤۰۰ رأس گاو با سنین مختلف که ۳٥٦ رأس(۸۹٪) ماده و ٤٤ رأس (۱۱٪) نر بودند به‌صورت خوشه‌ای تصادفی از شهرستان های مختلف استان، در فصول مختلف سال به نسبت ۸٥٪ از مراکز صنعتی و ۱٥٪ از مراکز سنتی انجام گردید. اطلاعات کلی از قبیل سن، جنس، تاریخ و محل نمونه گیری، نحوه تغذیه و سابقه مشکلات تنفسی دام ثبت می‌شد. شناسایی آنتی بادی ضد BRSV با روش الیزا انجام شد. داده‌ها با نرم افزار آماری SPSS و آزمون مجذور کای تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: در مجموع ۳۱۹ (۷۹.۷٪) رأس گاو، شامل ۲۹۸ رأس گاو ماده (۸۳.۷٪) و ۲۱ رأس گاو نر (٤۷.۷٪)، دارای آنتی بادی ضد BRSV بودند. بین میزان آلودگی در گاوها برحسب فصول مختلف سال اختلاف معنی دار مشاهده نشد($P> 0.05$)، اما بر حسب جنسیت معنی دار بود($P< 0.05$). بالا ترین (۸٥٪) و پایین ترین (۷۱٪) میزان آلودگی به ترتیب در شهرستان‌های ایلام و ایوان بود. کمترین(٦٤٪) و بیشترین(۹۰٪) میزان آلودگی به ترتیب در گروه سنی هفت سال و سه سال برآورد شد.

نتیجه گیری: میزان آلودگی چشمگیر است و با عواملی چون جنسیت، سن و مشکلات تنفسی وابستگی مستقیم دارد. با اعمال مدیریت صحیح و اصولی و بررسی تاثیر آلودگی بر روند سلامتی و تولید در استان، می‌توان از راهکار-های مناسب جهت پیشگیری از بیماری بهره برد.

کلید واژه ها: ویروس سینسیتیال تنفسی، گاو، سرولوژی، الیزای غیر مستقیم ، ایلام.

مقدمه:

ویروس سینسیتیال تنفسی گاو (BRSV : Bovine respiratory syncytial virus) اولین بار در سال ۱۹۷۰ در کشورهای بلژیک، سوئیس و ژاپن از گاوهای مبتلا به بیماری تنفسی جدا شد. این ویروس متعلق به جنس پنموویروس از خانواده پارامیکسویروده است. محل انتخابی تکثیر ویروس ، سلول‌های دستگاه تنفس می‌باشد. این ویروس را به سختی می‌توان جدا کرد (۳-۱).

عفونت ناشی از ویروس سینسیتیال تنفسی، به‌خصوص در گوساله‌های از شیر گرفته شده و گوساله‌های جوان، موجب پنمونی، ادم ریوی بینابینی و آمفیزم می‌شود. عفونت با این ویروس در دام‌هایی که در محیط بسته نگهداری می شوند، بسیار حائز اهمیت است. بیشترین حساسیت نسبت به BRSV در بین گوساله‌های ٦ تا ١٣ ماه مشاهده می-شود. علایم بیماری شامل تب ناگهانی، بی حالی، سرفه، افزایش حرکات تنفسی، تورم مخاط بینی و در برخی موارد التهاب برونشیول‌ها، بروز کانون‌های متعدد از پنمونی بینابینی، ادم بینابینی و آمفیزم است(٦-٤). در موارد حاد بیماری، برونکوپنمونی عارض شده وموجب مرگ دام می شود. تلفات گوساله‌هایی که به‌خوبی تغذیه می‌شوند، بیشتر از سایر گوساله‌های مبتلا است. زیرا برخی معتقدند که بعضی از اجزای خوراک دام مانند سیلوی ذرت، حیوان را مستعد ابتلاء به عفونت می کند. به‌طور کلی میزان ابتلاء به بیماری، زیاد ولی مرگ ومیر ناشی از آن کم و در حدود ۲۰-۰ درصد می باشد (۱۱-۷). در مطالعه سرولوژی که در گاوداری‌های صنعتی و سنتی استان چهار محال و بختیاری در سال ۱۳۸۱ انجام گرفت، پس از انجام آزمایش به روش الیزا مشخص گردید که از تعداد ۳۸٤ نمونه، ۳۱۱ نمونه در این آزمون دارای پاسخ مثبت هستند(۱۲).

در حال حاضر استفاده از فناوری PCR، بهترین روش برای تشخیص بیماری ناشی از BRSV محسوب می-شود(۱۵-۱۲). برای بررسی‌های سرولوژیک و شناسایی آنتی بادی‌های ضد این ویروس نیز می توان از آزمایش-های خنثی سازی سرم، هماگلوتیناسیون غیر مستقیم و الیزا استفاده کرد. حساسیت این آزمایش‌ها برای مشخص نمودن حضور آنتی بادی علیه این ویروس در سرم به ترتیب ۹۲،۹۵ و ۱۰۰ درصد گزارش شده است (۱۸-۱٦).

استان ایلام از مراکز مهم دام پروری وپرورش دام کشور به شمار می رود. طبق اطلاعات موجود تاکنون مطالعه ای در مورد میزان شیوع BRSV در این استان انجام نشده است. هدف از انجام این مطالعه تعیین آلودگی گاوداری های استان ایلام به ویروس سینسیتیال تنفسی بود.

مواد و روش‌ها:

این مطالعه در فاصله پاییز سال‌های ۱۳۸۷-۱۳۸٦، با خون گیری به مقدار ۵ میلی لیتر از٤۰۰ رأس گاو با سنین مختلف به‌صورت خوشه‌ای تصادفی، انجام شد. نمونه‌ها از شهرستان‌های استان، در فصول مختلف سال و به نسبت ۸۵٪ از مراکز صنعتی و ۱۵٪ ازمراکز سنتی جمع آوری شد. در هنگام نمونه‌گیری اطلاعات لازم مانند سن، جنس تاریخ و محل نمونه گیری، نحوه ی تغذیه و سابقه مشکلات تنفسی دام ثبت شد. نمونه‌ها پس از انعقاد و انتقال به آزمایشگاه آموزشکده دامپزشکی دانشگاه ایلام، با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. سرم نمونه‌ها جدا شد و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۱). شناسایی آنتی بادی ضد BRSV با روش الیزا و با استفاده از کیت تجارتی(Sigma cat: Z379603)محصول کشورآلمان انجام شد(۲۱-۱۸).

کیت مذکور برای تشخیص پادتن‌های ایجاد شده علیه ویروس BRSV در بدن گاوهای آلوده به روش الیزا است این کیت قادر است پادتن‌های اختصاصی ضد BRSV را در سرم یا شیر تشخیص دهد . کیت مزبور بر اساس الیزای فاز جامد و سنجش ایمنی به وسیله آنزیم استوار است. گودهای میکروپلیت الیزا با پادتن غیر عفونی ویروس BRSV پوشانده شده‌اند. نمونه‌های سرم مورد آزمایش با پادگن های موجود در گودهها مجاور می‌شوند. در صورت وجود پادتن‌های ضد BRSV در نمونه‌های سرم، این پادتن‌ها به پادگن‌ها متصل شده و در اثر شستشو کنده نمی‌شود. در مرحله بعد محلول کونژوگه پراکسیداز Anti- bovin IgG اضافه می‌شود که به پادتن‌های

موجود در گودهها متصل می‌گردد. میکروپلیت یک ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گرفت. متعاقباً، میکروپلیت تخلیه و سه مرتبه با PBS شستشو می‌شد و به آن محلول سوبسترا کروموژن اضافه می‌گردید. پس از ۱۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه، تغییر رنگ حاصله که به علت تأثیر کونژوگه آنزیم روی سوبسترا است، با افزودن ۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۲/۵ مولار به‌عنوان ماده متوقف کننده واکنش،متوقف می‌شد. میزان دانسیته اپتیک(OD)رنگ تولید شده با قرائت کننده الیزا مدل(BioRad-650) در طول موج ٤٥٠ نانومتر سنجیده می شد. سرم‌های مورد آزمایش با OD سرم‌های شاهد مثبت و منفی مقایسه شدند. جهت تفسیر آزمایش می بایست OD تصحیح شده هر زوج خانه که به سرم‌های شاهد مثبت، منفی و سرم‌های مورد آزمایش اختصاص یافته بودند، مطابق فرمول زیر سنجیده می شد(۲۲-۱۹).

مطابق توصیه‌های شرکت سازنده کیت ارزش ODcorr برای نمونه سرم مثبت مرجع است و برای هر کدام از نمونه های سرم مورد آزمایش از طریق ذیل محاسبه گردید:

OD BRSV - OD Control = Corrected Value

نمونه‌هایی که ODcorr آنها کمتر از ۰/۲ بود، نمونه منفی و نمونه هایی که ODcorr آنها بیشتر از ۲ برابر OD اصلاح شده شاهد منفی بودند، به عنوان نمونه مثبت در نظر گرفته می شدند. نتایج با استفاده از مربع کای (Chi-square) با حدود ۹۵ درصد اطمینان با نرم افزارآماری Spss ویرایش شانزدهم تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها:

از مجموع ٤٠٠ رأس گاو، ٣٥٦ رأس (۸۹٪) ماده و ٤٤ رأس (۱۱٪) نر بودند. ۲۹۸ رأس (۸۳/۷٪) گاو ماده و ۲۱ رأس (٤٧/٧٪) گاو نر، جمعاً ۳۱۹ رأس (۷۹/۷٪) از گاوهای تحت مطالعه دارای آنتی بادی ضد BRSV بودند. رابطه بین آلودگی و جنسیت معنی دار بود (P<0.05). بین آلودگی و فصول مختلف سال اختلاف معنی دار مشاهده نشد(P> 0.05). فراوانی آلودگی در پاییز و زمستان بیشتر از بهار و تابستان بود. ۳۰٤ رأس گاو (۷٦٪) واجد اختلالات تنفسی بودند. از این تعداد واکنش سرمی ٢٦٤ رأس (۸٦٪) مثبت بود. از ۹٦ رأس (٢٤٪) که هیچ گونه مشکل تنفسی نداشتند ۵۵ رأس (۵۷٪) به ویروس BSRV آلوده بودند (جدول ۱). بین آلودگی به BRSV و وجود سابقه مشکلات تنفسی رابطه معنی‌دار یافت شد(P> 0.05)(جدول ۱).

بالاترین میزان آلودگی مربوط به شهرستان ایلام(۸۵٪) و پایین ترین میزان مربوط به شهرستان ایوان(۷۱٪) بود (جدول ۲). کمترین میزان آلودگی در گروه سنی ۷ سال و بالاتر (٦٤٪) و بیشترین میزان آلودگی در گروه سنی ۳ سال (۹۰٪) برآورد گردید(جدول ۳). مقادیر قابل انتظار و قابل مشاهده بر حسب متغیرهای مورد مطالعه در جدول ٤ نشان داده شده‌است.

جدول ۱ : توزیع فراوانی پادتن ضد BRSV در گاوهای استان ایلام

نمونه های مورد آزمایش		تعداد	درصد	درصد تجمعی
جنسیت	ماده	۳٥٦	۸۹	۸۹
	نر	٤٤	۱۱	۱۰۰
جمع		٤۰۰	۱۰۰	
ماده	الیزا مثبت	۲۹۸	٧٤/٥	٧٤/٥
	الیزا منفی	۵۸	١٤/٥	۸۹
نر	الیزا مثبت	۲۱	٥/٢٥	٩٤/٢٥
	الیزا منفی	۲۳	٥/٧٥	۱۰۰
جمع		۱۰۰	۱۰۰	
فصول	بهار	۹۹	٢٤/٧٥	٢٤/٧٥
	تابستان	۱۰۱	٢٥/٢٥	٥۰
	پاییز	۹۰	٢٢/٥	٧٢/٥
	زمستان	۱۱۰	٢٧/٥	۱۰۰
جمع		٤۰۰	۱۰۰	
سابقه	**باسابقه مشکلات تنفسی**	۳۰٤	٧٦	٧٦
	بدون سابقه مشکلات تنفسی	۹٦	٢٤	۱۰۰

	۱۰۰	٤۰۰	جمع
٦٦	٦٦	۲٦٤	الیزا مثبت با سابقه مشکلات تنفسی
۱۰۰	۳٤	۱۳٦	الیزا مثبت بدون سابقه مشکلات تنفسی
	۱۰۰	٤۰۰	جمع

جدول ۲: توزیع فراوانی آلودگی به ویروس B RSV به تفکیک شهرستان‌های استان ایلام

شهرستان	تعداد، درصد	تعداد و درصد کل
ایلام	۱۲۸ ٪۸۵	۱۵۰ ٪۱۰۰
ایوان	٤۷ ٪۷۱	٦٦ ٪۱۰۰
شیروان چرداول	٤۹ ٪۷۹	٦۲ ٪۱۰۰
دهلران	۵۰ ٪۷۹	٦۳ ٪۱۰۰
دره شهر	٤۵ ٪۷٦	۵۹ ٪۱۰۰
جمع کل	۳۱۹ ٪۷۹	٤۰۰ ٪۱۰۰

جدول ۳ : توزیع فراوانی آلودگی به ویروس BRSV به تفکیک گروه‌های سنی دام

گروه سنی	تعداد نمونه	تعداد و درصد	تعداد درصد موارد کل
۱	۵٦	٤۹ ٪۸۷	۵٦ ٪۱۰۰
۲	٦٤	۵۷ ٪۸۹	٦٤ ٪۱۰۰
۳	٦۰	۵٤ ٪۹۰	٦۰ ٪۱۰۰
٤	۵۹	۵۰ ٪۸٤	۵۹ ٪۱۰۰
۵	۷۱	۵۰ ٪۷۰	۷۱ ٪۱۰۰
٦	۵۱	۳٤ ٪٦٦	۵۱ ٪۱۰۰
۷	۳۹	۲۵ ٪٦٤	۳۹ ٪۱۰۰
جمع کل	٤۰۰	۳۱۹ ٪۷۹	٤۰۰ ٪۱۰۰

جدول ٤: مقادیر قابل انتظار و قابل مشاهده بر حسب متغیرهای مورد مطالعه

متغیر	قابل مشاهده	قابل انتظار	باقی مانده
ماده	۳٥٦	۲۰۰	۱٥٦
نر	٤٤	۲۰۰	-۱٥٦
الیزا مثبت	۲۹۸	۱۰۰	۱۹۸
الیزا منفی	٥۸	۱۰۰	-٤۲
الیزا مثبت	۲۱	۱۰۰	-۷۹
الیزا منفی	۲۳	۱۰۰	-۷۷
بهار	۹۹	۱۰۰	-۱
تابستان	۱۰۱	۱۰۰	۱
پاییز	۹۰	۱۰۰	-۱۰
زمستان	۱۱۰	۱۰۰	۱۰
الیزا مثبت بهار	۷٦	٥۰	۲٦
الیزا منفی بهار	۲۳	٥۰	-۲۷
الیزا مثبت تابستان	۷۹	٥۰	۲۹
الیزا منفی زمستان	۲۲	٥۰	-۲۸
الیزا مثبت پاییز	۷٥	٥۰	۲٥
الیزا منفی پاییز	۱٥	٥۰	-۳٥
الیزا مثبت زمستان	۹۱	٥۰	٤۱
الیزا منفی زمستان	۱۹	٥۰	-۳۱
الیزا مثبت با سابقه مشکلات تنفسی	۲٦٤	۱۰۰	۱٦٤
الیزا منفی با سابقه مشکلات تنفسی	٤۰	۱۰۰	-٦۰
الیزا مثبت بدون سابقه مشکلات تنفسی	٥٥	۱۰۰	-٤٥
الیزا منفی بدون سابقه مشکلات تنفسی	٤۱	۱۰۰	-٥۹
جمع	٤۰۰		

بحث:

BRSV از مهم‌ترین عوامل دخیل در ایجاد سندرم بیماری‌های تنفسی گاو محسوب می‌شود. بین سابقه مشکلات تنفسی و آلودگی به ویروس ارتباط تنگاتنگ وجود دارد. علائم عفونت و فراوانی آلودگی به BRSV تحت تاثیر تغییرات و استرس‌های آب و هوایی قرار دارد(۲۳).

آلودگی به ویروس BRSV در اکثر کشورهای دنیا گزارش شده است. این گزارشات معمولاً بر اساس انجام آزمایش‌هایی مانند خنثی سازی سرم، ممانعت از هماگلوتیناسیون و الیزا صورت می گیرند(۱۸، ۲٤ و ۲٥). فراوانی آلودگی به این ویروس در یونان ٥۷٪- ۱٦٪، در آلمان ٥۰٪، در کانادا ۳٦/۷٪، در سوریه ٦۲/۱٪ و در ترکیه ۹/۸٪ گزارش شده است. در آمریکا نیز میزان شیوع آنتی بادی ضد BRSV در جمعیت دام‌های بزرگ ۸۱٪ - ٦٥٪ گزارش شده است(۲۸-۲٦). در یک بررسی در شمال آلمان شیوع BRSV در گاوهای نژاد هولشتاین بالغ بر ٥۰ درصد گزارش گردید(۲۹). در شمال غربی سوریه تیتر آنتی‌بادی ۲٤۳ گاو نژاد هولشتاین به روش IFA ۸۸درصد

محال و بختیاری هم عبارت است از: شهرکرد ۸۶/۸۰٪، فارسان ۷۱/۴۲٪، بروجن ۸۱/۳۵٪، لردگان ۸۰/۳۲٪ و اردل ۷۷/۹۹٪ (۱۲). میزان آلودگی در مطالعه حاضر (۷۹/۷٪) با حداکثر میزان آلودگی در مطالعات مذکور برابری می کند.

در این مطالعه میزان آلودگی در پاییز و زمستان بیشتر از بهار و تابستان است. در فصول سرد آلودگی بیشتر رخ می دهد. زیرا، دام‌ها در محیط بسته وبا تراکم بالا نگهداری می شوند و این امر باعث تسریع و تسهیل در انتقال ویروس از یک دام به دام دیگر می‌گردد. در بررسی‌های انجام شده نیز میزان آلودگی در پاییز و زمستان بیشتر از بهار و تابستان گزارش شده است (۲۳-۲۰). در سه مزرعه پرورش گاو در جنوب شرقی اسکاتلند این میزان در فصل پاییز (۸۵/۴٪) بیشتر از بهار(۷۴/۲٪) بوده است(۳۱).

نتایج مطالعه حاضر حاکی از گسترش چشم‌گیر بیماری در استان است. شهرستان ایلام با ۸۵درصد نسبت به سایر آلودگی در شهرستان ایلام در مقایسه با شهرستان‌های دیگر استان‌ها نیز در حد بالا قرار دارد. به‌طوری که آلودگی در آن در مقایسه با مطالعه استان چهار محال و بختیاری فقط با میزان آلودگی در شهرکرد (۸۶/۸۰٪) قابل مقایسه است. در این مطالعه هم بین میزان آلودگی و محل شهرستان اختلاف معنی دار مشاهده نشده است (۱۲).

نتیجه گیری:

نتایج مطالعه حاضر حاکی از شیوع نسبتاً بالای آلودگی با BRSV در میان گاوهای منطقه است. ضروری است با مطالعات بیشتر و بررسی تاثیر آلودگی بر روند سلامتی و تولید در حیوانات این استان، از راهکارهای مناسب برای کنترل آلودگی بهره برد.

فهرست مراجع:

1- Alkan F,Oza, Bilge Dagalp S, Yesilbag k, Oguzoglu TE, Akcay *et al*. Virological and serological studies on the of pl-3 virus BRSV ,BHV- 1 on respiratory infections of cattle.I. the detection of etiological agents by direct immunofluorescence technique. *Dtsch tierarztl wochenschr*,2000;**107**(5)**:**193-5.

2- Van der poel WHM, Brand A, Kramps JA, Van oir schot JT. Respiratory Syncytial Virus infection in human beaings and in cattle. *J infec* 1994;29:215-228.

3- Belanger RD. A seroepidemiological study of the importance in cow-calf pairs of respiratory and enteric viruses in beef operations from northwestern Quebec. *Can J Vet Res*1995;**59**(1)**:**26-33.

4- Maglione E, Guercio A. BRSV ; epidemiological relationships between wild and domestic ruminants sharing the sae habitst,Atti dela- scocieta Italian da – *Buirtria* 1992;**24**:545-552.

5- Giangaspero M , Vacirca G. Epidemiological survey on virus disease of cattle in northwest Syria. *Tropicultura*(Belgium)1992; **10**(2):55 – 57.

6- Heckert HP, Steinhage P. Clinical features and epidemiology of BRSV in cattle in northern Germany, proceedings 18 th world buiatrics congress: 26 th congress of the Italian Association of buiatticas , bologna, Italy1994;PP:777-780.

7- Rontved CM, Tjornehoj K, Viuff B, Larsen LE, Godson DL,Ronsholt L, *et al*. Increased pulmonary secretion of tumor necrosis factor-alpha in calves experimentally infected with bovine respiratory syncytory virus.*Vet Immunol Immunopathol*2000;**76**(3-4)**:**199-214.

8- Kalina WV, Anderson ML, Gershwin LJ. Alternaria aerosol during a bovine respiratory syncytial virus infection alters the severity of subsequent re-infection and enhances IgE production. *Comp immunol microbiol infect dis*2006;**29**(2-3)**:**138-56.

۹- کیوانفر ه، کریمی ن. *ویروس شناسی دامپزشکی(بخش بیماری‌ها)*، چاپ اول، مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران،۱۳۷۶، صص ۳۳۵-۳۲۴.

10- Gershwin LJ, Berghaus LJ, Arnold K, Anderson ML,Corbeil LB. Immune mechanisms of pathogenic synergy in concurrent bovine pulmonary infection with Haemophilus somnus and bovine respiratory syncytial virus. *Vet immunol immunopathol*2000;**107**(1-2)**:**119-30.

11- Cho KO, Hasoksuz M, Nielsen PR, Chang KO,Lathrops IJ. Cross-protection

studies between respiratory and calf diarrhea and winter dysentery corona virus strains in calves and calf- per and nested per for their detection .*Arch Virol* 2001;**146**(12)**:**2401-19.

۱۲- تاجبخش ا، ممتاز ح. بررسی سرمی آلودگی گاوهای استان چهار محال و بختیاری به ویروس سنسیتیال تنفسی (BRSV) و تعیین میزان آلودگی آن ها. *مجله پژوهش و سازندگی*. بهار ۱۳۸٤، دوره هفدهم، شماره٤ (پیاپی٦٦)، صص ۹۸ تا ۱۰۳ .

13- Vilcek S, Elvander M, Ballagipordany A, Belak S. Development of nested PCR assays for detection of bovine respiratory syncytial virus in clinical samples. *J Clin Microbiol* 1994; **32**:2225-2231.

14- Fulton RW, Purdy CW, Confer AW, Saliki JT, Loanr w, Bbriggs RE, *et al*. Bovine viral diarrhea viral infection in feeder calves with respiratory disease :interaction with pasteurella spp., para influenza -3 virus, and bovine respiratory syncytial virus. *Can J Vet Res*2000;**64**(3):151-9.

15- Sorden SD. Diagnostic methods for respiratory dieases, In Howard JL, Smith RA(eds). *Current veterinary Therapy*: *Food Animal Practice.* 4th ed. Philadelphia ; *WB Saunders.* 1999;PP: 455-460.

16- West K, Bogdan J, Hamel A, Nayar G, Paul SM, Deborah MH, John AE. A Comparison of Diagnostic Methods for the Detection of Bovine Respiratory Syncytial Virus in Experimental Clinical Specimens.*Can J Vet Res* 1998;**62**:245-250

17- Baker JC. Bovine respiratory syncytial virus. *Vet Clin North Am* 1985;**1**:259-275.

18- Dubovie J. Diagnosing BRSV infection:A laboratory perspective.*Vet Med* 1993; **88**(9): 888-893.

19- Gillete KG. Enzyme-linked immunosorbent assay used to monitor serum antibodies to bovine respiratory syncytial virus: comparison with complement fixation and neutralization tests. *Am J Vet Res*1983;**44**: 225 1-2255.

20- Gerham, DA , Moshane. J. Evaluation of single dilution of ElISA system for detection of BRSV. PI32001;(5):120-122.

21- Rhodes MB, Klucas CA, Frey ML, Anderson GA. A blocking ELISA for the detection of specific antibodies to bovine respiratory syncytial virus. *J Vet Diag nvest* 1988;**1**:359-369.

22- Mcintosh K, Hendry RM, Fahnestok ML, Pierik LT. Enzyme linked immunosorbent assay for detection of respiratory syncytial virus infection: applications to clinical samples. *J Clin Microbiol*1982;**16**:329-333.

23- Mars MH. Airbornne transmission of BHV-1, BRSV and BVDV among cattle is possible under experimental conditions. *Vet Microbiol*1999;**66**:197-207.

24- Perino LJ, Aply M. Bovine respiratory disease, In Howard JL, Smith RA(eds): *Current veterinary Therapy: Food Animal Practice.* 4th ed. Philadelphia ; *WB Saunders.* 1999;PP: 446-455.

25- Martin WS, Meek AH, Willeberg P. *Veterinary epidemiology*. Ames, USA, Iowa State University Press1987; P: 343.

26- Bryson DG. Infectious bovine respiratory dieases- emerging issues and progress towards control.*1996;19th World Buiatrics Congress- BCVA Edinburgh.UK.*

27- Ellis J,West K, Konoby C, Leard T, Gallo G,Conlon J, *etal*. Efficacy of an inactivated respiratory syncytial virus vaccine in calves. *J Vet Med Assoc*;2001;**218**(12)**:**1973-80.

28- Bryson DG. The calf pneumonia Complex- Current thoughts on aetiology.J *Cattle Practice*2000;8:103-107.

29- Heckert HP, Steinhage P. Clinical features and epidemiology of BRSV in cattle in northern Germany, proceeding 18th world Buiatrics congress : 26th congress of the Italian Association of Buiatticas, Bologna, Italy1994;Volumer: 777-780.

30- Ginagaspero M, Vacsrca G. Epidemiological survey on virus disease of cattle in north west Syria.1992;**10**:2,55-57.

31- Scott R. Epidemology and treatment of bovine respiratory disease in beef cattle. *J Cattle practice*1997;**5**(4)**:** 283 -288.