DOI:10.22092/vj.2017.113187
شماره ۱۱۷ زمستان ۱۳۹۶
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

بررسی میزان شیوع و عوامل خطر بیماری زبان آبی در گاوداری‌های شیری استان فارس

• **محسن معنویان (نویسنده مسئول)**
موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، شعبه شیراز، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران.
• **مجید هاشمی**
موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، شعبه شیراز، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران.
• **فرهنگ توان**
موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، شعبه شیراز، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران.
• **سید محمدحسین حسینی**
موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، شعبه شیراز، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران.
• **داوود نیکو**
موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، شعبه شیراز، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران.
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵-۰۵-۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵-۰۹-۲۳
Email: manavian@gmail.com

چکیده

بیماری زبان آبی یکی از بیماری‌های ویروسی نشخوارکنندگان است که توسط پشه‌های کولیکوئیدس منتقل می‌شود و دارای اهمیت اقتصادی و بهداشتی می‌باشد. تاکنون گزارشی از میزان شیوع بیماری زبان آبی در گاوداری‌های استان فارس منتشر نشده است، لذا این تحقیق با هدف بررسی میزان شیوع سرمی ویروس زبان آبی و تعیین فاکتورهای خطر آن در گاوداری‌های شیری استان فارس انجام گرفت. برای این منظور نمونه خون از ۵۲۱ راس گاو در گاوداری‌های منتخب استان و در دو منطقه گرمسیر و معتدل اخذ گردید. پس از جداسازی سرم از نمونه‌های خون وجود آنتی‌بادی‌های ضد ویروس زبان آبی با استفاده از کیت‌های تجاری الایزا مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ۱۹/۷۷ درصد از نمونه‌ها دارای آنتی‌بادی‌های ضد ویروس زبان آبی بودند. بین بیماری و فاکتورهای خطر مورد بررسی شامل سن، درجه حرارت محیط، جنس، نژاد و نوع پرورش ارتباط معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) مشاهده شد، اما در رگرسیون لجستیک با در نظر گرفتن همه عوامل خطر، مدل معنی‌دار نشد. در نهایت می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اگرچه میزان شیوع سرمی ویروس زبان آبی در گاوداری‌های استان فارس خیلی بالا نیست، ولی با توجه به این که گاو به عنوان مخزن اصلی ویروس شناخته شده، لذا تحقیقات بیشتر در این زمینه همچون تعیین الگوی توزیع پشه‌های ناقل، جداسازی ویروس و تعیین سکانس ژنی آن پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: زبان آبی، کولیکوئیدس، استان فارس، ایران، گاو شیری

● Veterinary Researches & Biological Products No 117 pp: 24-28

Prevalence rate and risk factor of bluetongue disease in dairy cattle farms of fars province

By: Manavian, M., (Corresponding Author) Razi Vaccine and Serum Research Institute, Shiraz Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran. Hashemi, M., Razi Vaccine and Serum Research Institute, Shiraz Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran. Tavan, F., Razi Vaccine and Serum Research Institute, Shiraz Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran. Hosseini, S.M.H., Razi Vaccine and Serum Research Institute, Shiraz Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran. and Nikoo, D., Razi Vaccine and Serum Research Institute, Shiraz Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran.

Received: 2016-07-24 Accepted: 2016-12-13

Email: manavian@gmail.com

Bluetongue is a ruminant viral disease which transmits by Culicoides flies and is important in economical and hygienic aspects. There is no published document on bluetongue in Fars province and this study was done to determine seroprevalence of Bluetongue virus (BTV) and related risk factors in dairy cattle farms in Fars province, Iran. Blood samples were collected from 521 apparently healthy cows in selected farms which was in two hot and moderate climates of province. Serum was detected from samples and evaluated for antibodies against BTV. The results showed 19.77% of samples had BTV antibodies. Associations between each independent variables including age, environmental temperature, sex, breed and farming system and BTV infection were statistically significant (P<0.05). Logistic regression model was not significant when all of risk factors entered. Finally it can be concluded that bluetongue seroprevalence was not very high in Fars province, but since cow has been proved as the main reservoir for virus, further studies including distribution of Culicoides vectors in the region, virus isolation and genome sequencing of the isolated viruses are suggested.

Key words: Bluetongue, Culicoides, Fars province, Iran, Dairy cattle

مقدمه

بیماری زبان آبی یک بیماری عفونی و غیرواگیر در نشخوارکنندگان اهلی و وحشی می‌باشد که بوسیله ویروس زبان آبی ایجاد می‌شود. این بیماری ابتدا در قرن ۱۹ میلادی در گوسفندان نژاد مرینوس وارداتی به آفریقای جنوبی شناسایی شد و در سال ۱۹۰۵ به علت وجه مشخصه این بیماری که سیانوزه شدن زبان دام‌های درگیر بود، به نام زبان آبی نامگذاری گردید (۱۰). از آن زمان تاکنون همه‌گیری‌های متعددی از این بیماری در دنیا گزارش شده به طوریکه در سالیان اخیر این بیماری علاوه بر آفریقا، در کشورهای واقع در اروپای مرکزی و شمالی، آمریکا و استرالیا و بخشهایی از آسیا گزارش شده است (۱۷). عامل بیماری ویروسی از خانواده رئوویریده و جنس اوربیویروس بوده که از طریق نیش پشه‌های کولیکوئیدس منتقل می‌شود. از بین ۱۴۰۰ گونه از پشه‌های کولیکوئیدس فقط ۲۴ گونه در انتقال این بیماری دخیل هستند (۱۵). حداقل ۲۶ سروتیپ از این ویروس شناسایی گردیده که تفاوت‌های ژنتیکی درون هر سروتیپ قابل توجه است. شیوع ویروس معمولاً در مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر در محدوده ۴۰ درجه عرض شمالی و ۳۵ درجه عرض جنوبی می‌باشد ولی پهنای انتشار آن تا ۵۰ درجه شمالی نیز گسترش یافته است (۹). اگرچه اشکال بالینی این بیماری بیشتر در گوسفند مشاهده می‌شود، اما گاوسانان به عنوان اصلی‌ترین مخزن بیماری و تشدیدکننده جمعیت ویروس شناخته شده‌اند، چراکه اکثر پشه‌های ناقل گاو را به عنوان میزبان اصلی خود ترجیح می‌دهند (۱۶). این بیماری یکی از عوامل اصلی خسارت اقتصادی به دامداران می‌باشد و به همین دلیل به عنوان یک خطر بالقوه شناخته شده و کشورهای مختلف ملزم به گزارش بروز این بیماری به سازمان جهانی بهداشت دام می‌باشند (۱۳). گزارش‌های مختلفی از میزان شیوع سرمی ویروس زبان آبی در گله‌های گاو در مناطقی همچون تایوان (۹۰/۷ درصد)، بلژیک (۷۳/۴ درصد)، جنوب شرقی ترکیه (۸۸ درصد)، کالیفرنیای آمریکا (۹۰ درصد) و غرب سودان (۶۷ درصد) موجود است (۴، ۸، ۲۰ و ۲۱). در ایران نیز اولین گزارش وجود آنتي‌بادي ضد ویروس زبان آبی در سال ۱۳۵۳ توسط کیوانفر و افشار و با آزمایش بر روی ۲۹۲۱ نمونه سرم گوسفند، بز، گاو و شتر ذبح شده انجام شد (۳). گزارش‌های موجود در ارتباط با میزان شیوع این بیماری در گاوداری‌های کشور بسیار کم بوده و تنها دو گزارش از مناطق جنوب شرقی و مرکزی ایران که شیوع بیماری را به ترتیب ۲/۱۳ و ۲/۶۹ درصد اعلام کردند، منتشر شده است (۱۱ و ۱۲). اگرچه استان فارس با داشتن ۳۸۰ هزار راس گاو و گوساله، مقام پنجم در پرورش این نوع دام اهلی را داشته و سهم به سزایی در تولید شیر و گوشت کشور را دارا می‌باشد، اما تاکنون گزارشی از میزان شیوع بیماری زبان آبی در گاوداری‌های این استان منتشر نشده است. با توجه به اهمیت اقتصادی و بهداشتی این بیماری و لزوم جمع‌آوری اطلاعات در این زمینه، در این تحقیق سعی شد تا علاوه بر تعیین میزان شیوع سرمی آنتی‌بادی بر علیه ویروس زبان آبی، فاکتورهای خطر این بیماری در گاوداری‌های استان

فارس مورد مطالعه قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

برای اجرای این تحقیق، ابتدا شهرستان‌های استان فارس بر اساس مقدار بیشینه درجه حرارت سالیانه به دو گروه بالاتر و پایین‌تر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد تقسیم شدند. با استفاده از داده‌های سیستم اطلاعات جغرافیایی سازمان دامپزشکی کشور در هر گروه، سه واحد اپیدیمولوژیک به طور تصادفی انتخاب شدند و نمونه خون از تمام گاوهای موجود در هر واحد گرفته شد. در مجموع در این تحقیق ۵۲۱ نمونه خون گرفته شد. خونگیری با استفاده از لوله خونگیری تحت خلا (VACUETTE®, Greiner Bio-One GmbH, Kremsmünster, Austria) و به مقدار پنج میلی‌لیتر از سیاهرگ وداج انجام گرفت. سرم با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) جدا گردید و تا زمان انجام آزمایش در شرایط انجماد (۲۰- درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. به منظور بررسی فاکتورهای خطر اطلاعاتی همچون سن (در سه گروه نوزادان زیر شش ماه، گاوهای جوان بین شش ماه تا دو سال و گاوهای مسن بالای دو سال)، جنس (نر و ماده)، نژاد (بومی و دو رگ) و تاریخچه سقط برای هر راس دام ثبت شد.

وجود آنتی‌بادی بر علیه پروتئین vpv ویروس زبان آبی در نمونه‌های سرم مورد آزمایش بوسیله کیت الایزا تجاری (Pourquier®, Montpellier, France) در آزمایشگاه ایمنی‌شناسی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی شعبه شیراز مورد ارزیابی قرار گرفت. اساس آزمایش بر پایه ردیابی آنتی‌بادی‌های موجود بر علیه سروتیپ ویروس زبان آبی در سرم با آزمایش الیزای رقابتی بود. هر کیت از یک پلیت ۹۶ خانه حاوی پروتئین vpv نوترکیب، مواد شست و شو، بافر رقت، کنترل مثبت، کنترل منفی، آنتی‌بادی پلی‌کلونال ضد پروتئین vpv متصل شده با آنزیم هورس ردیش پراکسیداز، سوبسترای آنزیم (تترامتیل بنزیدین) و محلول متوقف کننده تشکیل شده بود. اجزای کیت تا زمان انجام آزمایش در دمای یخچال (پنج درجه سانتی‌گراد) نگهداری و قبل از مصرف علاوه بر این که به درجه حرارت اتاق (۲۴ درجه سانتی‌گراد) رسانده شدند، تمامی محلول‌ها با ورتکس کاملاً یکنواخت شدند. پس از تهیه محلول شست و شو و رقیق‌سازی کانژوگه، نمونه‌های سرم یخ‌گشایی شده و مراحل آزمایش مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد (۵). در انتهای آزمایش، واکنش با استفاده از اسید و تغییر رنگ از آبی به زرد متوقف شد. شدت رنگ تولید شده که متناسب با غلظت آنتی‌ژن بود با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (Bio Tek, Vermont, USA) و در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. نتایج بر حسب درصد و گرفتن نسبت جذب نوری نمونه مورد آزمایش به جذب نوری کنترل منفی محاسبه شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ ابتدا به صورت توصیفی مورد بررسی قرار گرفتند و سپس برای تحلیل داده‌ها از آزمون مربع کای و رگرسیون لجستیک استفاده شد. سطح آلفای پنج درصد به عنوان مبنای قضاوت آماری قرار گرفت.

نتایج

پس از آزمایش ۵۲۱ نمونه سرم در ۱۰۳ نمونه (۱۹/۷۷ درصد) آنتی‌بادی بر علیه ویروس زبان آبی جدا شد. توزیع فراوانی موارد مثبت و منفی به تفکیک سن و جنس به ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ ارائه گردیده است. وجود آنتی‌بادی بر علیه ویروس زبان آبی در گاوهای با سن شش ماه تا دو سال نسبت به سایر سنین و در جنس نر نسبت به جنس ماده به شکل معنی‌دار ($p < ۰/۰۰۱$) بالاتر بود. در آزمون مربع کای ارتباط معنی‌داری ($p < ۰/۰۰۱$) بین درجه حرارت محیط، نوع گاوداری و نژاد با شیوع سرمی ویروس زبان آبی در گاوهای استان فارس مشاهده شد. فراوانی نسبی موارد مثبت در گاوداری‌های مستقر در مناطق با میانگین درجه حرارت بالای ۴۰ درجه سانتی‌گراد (۸۳/۵ درصد) به شکل معنی‌داری ($p < ۰/۰۰۱$) بالاتر از مناطق با میانگین درجه حرارت زیر ۴۰ درجه سانتی‌گراد (۱/۷ درصد) بود. فراوانی نسبی موارد مثبت در گاوهای دورگ و بومی به ترتیب ۸۰ و ۱/۸ درصد بود که با هم تفاوت معنی‌داری ($p < ۰/۰۰۱$) داشتند. نوع مدیریت گاوداری در استان فارس نیز تاثیر معنی‌داری ($p < ۰/۰۰۱$) بر روی شیوع سرمی ویروس زبان آبی داشت، به طوری که شیوع سرمی این بیماری در گاوداری‌های سنتی (۷۸

جدول ۱- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد مثبت و منفی وجود آنتی‌بادی بر علیه ویروس زبان آبی در گاوهای استان فارس به تفکیک سن

فراوانی	مثبت		منفی		کل	
سن	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
زیر ۶ ماه	۱۳	۱۶/۵ b	۶۶	۸۳/۵ a	۷۹	۱۵/۲
۶ ماه تا ۲ سال	۵۲	۲۳/۳ a	۱۰۹	۶۷/۷ b	۱۶۱	۳۰/۹
بالای ۲ سال	۳۸	۱۳/۵ b	۲۴۳	۸۶/۵ a	۲۸۱	۵۳/۹
جمع کل	۱۰۳	۱۹/۸	۳۱۸	۸۰/۲	۵۲۱	۱۰۰/۰

حروف غیرمشابه در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p < ۰/۰۰۱$، $\chi^2 = ۲۳/۳۹$).

درصد) بسیار بالاتر از گاوداری‌های صنعتی (۲/۱ درصد) و نیمه صنعتی (۱/۳ درصد) بود. سابقه سقط جنین در گاو تاثیر معنی‌داری بر روی میزان شیوع سرمی زبان آبی نداشت. زمانی که این فاکتورهای خطر در مدل رگرسیون لجستیک قرار گرفتند و با روش متد تجزیه آماری شدند، اگرچه مدل ۷۷ درصد واریانس در عفونت زبان آبی را شرح داده و ۹۵ درصد موارد را به دقت رده‌بندی کرده بود، اما این مدل از لحاظ آماری معنی‌دار نبود {$\chi 2\ (6)= 5.21\ ,\ p > 0.5$} و نسبت‌های شانس در این مدل برای هیچ کدام از فاکتورهای خطر محاسبه نشد.

بحث و نتیجه‌گیری

اگرچه روش‌های متنوعی همچون انتشار ایمنی ژل آگار، مهار انعقاد خون، ثبوت کمپلمان، خنثی سازی سرم و الایزا برای ارزیابی حضور آنتی‌بادی بر علیه ویروس زبان آبی معرفی شدند، اما آزمون الایزا رقابتی به عنوان روشی سریع و دقیق با حساسیت و ویژگی بالا (به ترتیب ۱۰۰ و ۹۸ درصد) در پژوهش‌های انجام شده بکار رفته است (۲، ۷ و ۱۲).

مظفری و همکاران (۲۰۱۲) و نعمان و همکاران (۲۰۱۳) با استفاده از این آزمون میزان شیوع سرمی ویروس زبان آبی را در نواحی جنوب شرقی و مرکزی ایران به ترتیب ۲/۱۳ و ۲/۶۹ درصد گزارش کردند که بسیار کمتر از یافته‌های این تحقیق می‌باشند (۱۱ و ۱۲). اما بر خلاف این محققان، گزارش‌هایی از کشور ترکیه، کنیا و تایوان به ترتیب ۸۸، ۹۴/۲ و ۳۲/۷ درصد از آلودگی گاوها به ویروس زبان آبی را نشان دادند (۴، ۸ و ۱۵). این اختلاف‌ها می‌توانند ناشی از تفاوت‌های آب و هوایی، جمعیت حشرات ناقل و روش‌های پرورش باشند. ایران کشوری است که در یک زمان نقاط مختلف آن دارای آب و هوایی متنوعی می‌باشد و این تنوع می‌تواند جمعیت حشرات ناقل را تحت تاثیر قرار دهد.

درجه حرارت محیط، میزان بارندگی، رطوبت و جهت وزش باد از عوامل محیطی هستند که جمعیت پشه ناقل و توانایی آن را در انتقال ویروس زبان آبی تحت تاثیر قرار می‌دهند (۹). پشه‌های کولیکوئیدس برای تغذیه و تولیدمثل به آب و هوای گرم و رطوبت مناسب احتیاج دارند و هوای داغ و خشک شرایط را برای فعالیت و چرخه زندگی پشه ناقل نامناسب می‌سازد. آب و هوای استان فارس برای تکثیر و فعالیت ناقلین این ویروس و انتقال آن مناسب می‌باشد (۱۴). در استان فارس پرورش گاو اکثراً به صورت بسته بوده و دام در تمام طول دوره پرورش در گاوداری نگهداری می‌شود. محدود شدن حرکت گاوها به محیط گاوداری می‌تواند در پایین بودن میزان شیوع سرمی ویروس در استان نقش داشته باشد (۱۹). میزان شیوع بالاتر ویروس در دام‌های مسن‌تر در این مطالعه با گزارش سایر محققان همخوانی دارد (۱ و ۱۲). این موضوع می‌تواند ناشی از عدم وجود آنتی‌بادی با منشاء آغوز در سنین بالا، افزایش حساسیت به ویروس با افزایش سن و افزایش مواجهه با ناقل بدلیل افزایش سطح بدن یا سن در مقایسه با گوساله‌های جوان می‌باشد (۲۰). بالاتر بودن میزان شیوع سرمی ویروس در گاوهای ماده با یافته‌های بیتو و همکاران (۲۰۱۳) در کشور سودان هم‌خوانی دارد (۶). نعمان و همکاران (۲۰۱۳) بر خلاف یافته‌های مطالعه حاضر ارتباطی بین نوع دامداری (صنعتی یا سنتی) با میزان شیوع سرمی مشاهده نکردند (۱۲). عدم وجود شرایط غیر بهداشتی در محیط زندگی دام همچون تجمع کود و لجن در بستر، وجود آب‌های راکد و دیوارهای فاقد پلاستر که در اکثر گاوداری‌های سنتی مورد مطالعه در این تحقیق مشاهده شد، می‌تواند محیط مناسبی برای تکثیر و فعالیت پشه‌ها ایجاد کند و این مسئله می‌تواند دلیلی برای میزان آلودگی بیشتر در این دسته از گاوداری‌ها باشد. در نهایت با توجه به نتایج این مطالعه چنین می‌توان نتیجه گرفت که اگرچه میزان شیوع سرمی ویروس زبان آبی در گاوداری‌های استان فارس خیلی بالا نیست، اما با توجه به این که گاو به عنوان مخزن اصلی ویروس شناخته شده، خطر بالقوه‌ای برای سایر گاوداری‌ها یا گله‌های گوسفند و بز مستقر در استان یا کوچرو ایجاد می‌کند، لذا تحقیقات بیشتر در این زمینه همچون تعیین الگوی توزیع پشه‌های ناقل، جداسازی ویروس و تعیین سکانس ژنی آن پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی به دلیل تامین هزینه اجرای این پروژه تحقیقاتی کمال تشکر را دارند.

منابع مورد استفاده

1. Adam, I. A., M. A. Abdalla, M. E. Mohamed and I. E. Aradaib.

جدول ۲- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد مثبت و منفی وجود آنتی‌بادی بر علیه ویروس زبان آبی در گاوهای استان فارس به تفکیک جنس

فراوانی	مثبت		منفی		کل	
جنس	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
ماده	۷۲	۱۶/۹ b	۳۵۴	۸۳/۱ a	۴۲۶	۸۱/۸
نر	۳۱	۳۲/۶ a	۶۴	۶۷/۴ b	۹۵	۱۸/۲
جمع کل	۱۰۳	۱۹/۸	۴۱۸	۸۰/۲	۵۲۱	۱۰۰/۰

حروف غیرمشابه در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($\chi 2$= ۱۲/۱۲ ،p < ۰/۰۰۱)..

2014. Prevalence of bluetongue virus infection and associated risk factors among cattle in North Kordufan State, Western Sudan. *BMC Veterinary Research* 10: 94.

2. Afshar A. 1994. Bluetongue: laboratory diagnosis. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases 17: 221-242.

3. Afshar, A. and H. Kayvanfar. 1974. Occurrence precipiting antibodies to blue tongue virus in sera of farm animals in Iran. *Veterinary Record* 94: 233-235.

4. Gur, S. 2008. A serologic investigation of blue tongue virus (BTV) in cattle, sheep and gazella subgutturosa subgutturosa in southeastern Turkey. *Tropical Animal Health and Production* 40: 217-221.

5. IDEXX laboratories. 2010. Pourquier ELISA bluetongue competition. Institut Pourquier. Montpellier, France.

6. Khair, H. O., I. A. Adam, S. B. Bushara, K. H. Eltom, N. O. Musa and I. E. Aradaib. 2014. Prevalence of bluetongue virus antibodies and associated risk factors among cattle in East Darfur State, Western Sudan. *Irish Veterinary Journal* 67: 1-4.

7. Khezri, M. and S. M. Azimi. 2013. Epidemiological investigation of bluetongue virus antibodies in sheep in Iran. *Veterinary World* 6: 122-125.

8. Lee, F., L. J. Ting, M. H. Jong, W. M. Chang and F. I. Wang. 2010. Subclinical bluetongue virus infection in domestic ruminants in Taiwan. *Veterinary Microbiology* 142: 225-231.

9. Mellor, P. S. and E. J. Wittmann. 2002. Bluetongue virus in the Mediterranean basin, 1998-2001. *Veterinary Journal* 16: 20-37.

10. Monath, T. P. and F. Guirakhoo. 1996. Orbivurses and Coltiviruses. pp. 1735-1766, In: B. N. Fields, D. M. Knipe and P. M. Howley (eds.), Fields Virology. Lippincott-Raven Publisher, Philadelphia.

11. Mozaffari, A. A., M. Khalili and F. Yahyazadeh. 2012. A serological investigation of bluetongue virus in cattle of south-east Iran. *Veterinaria Italiana* 48: 41-44.

12. Noaman, V., E. Shirvani, S. M. Hosseini, A. H. Shahmoradi, M. R. Heidari, H. Raiszadeh, M. Kamalzadeh and M. Bahreyari. 2013. Serological surveillance of bluetongue virus in cattle in central Iran. *Veterinaria Italiana* 49: 141-144.

13. OIE. 2012. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 7th ed. World Organization for Animal Health.158-159.

14. Oryan, A., O. Amrabadi and M. Mohagheghzadeh. 2014. Seroprevalence of bluetongue in sheep and goats in southern Iran with an overview of four decades of its epidemiological status in Iran. *Comparative Clinical Pathology* 23: 1515-1523.

15. Pandrangi, A. 2013. Etiology, pathogenesis and future prospects for developing improved vaccines against bluetongue virus: A Review. *African Journal of Environmental Science and Technology* 7: 68-80.

16. Pfannenstiel, R. S., B. A. Mullens, M. G. Ruder, L. Zurek, L. W. Cohnstaedt and D. Nayduch. 2015. Management of North American Culicoides Biting Midges: Current Knowledge and Research Needs. *Vector-borne and Zoonotic disease* 15: 374-384.

17. Sperlova, A. and D. Zendulkova. 2011. Bluetongue: a review. *Veterinarni Medicina* 56: 430-452.

18. Toye P. G., C. A. Batten, H. Kiara, M. R. Henstock, L. Edwards, S. Thumbi, E. J. Poole, I. G. Handel, B. M. Bronsvoort, O. Hanotte, J. A. W. Coetzer, M. E. J. Woolhouse and C. A. L. Oura 2013. Bluetongue and epizootic haemorrhagic disease virus in local breeds of cattle in Kenya. *Research in Veterinary Science* 94: 769-773.

19. Turner, J., R.G. Bowers and M. Baylis 2012. Modelling bluetongue virus transmission between farms using animal and vector movements. *Scientific Reports* 2: 1-7.

20. Uhaa, I. J., H. P. Riemann, M. C. Thurmond and C. E. Franti. 1990. A seroepidemiological study on bluetongue virus in dairy cattle in the central valley of California. *Veterinary Research Communications* 14: 99-112.

21. Vangeel, I., I. De Leeuw, E. Méroc, F Vandenbussche., F. Riocreux, J. Hooyberghs, M. Raemaekers, Houdart P., Van der Stede Y. and K. De Clercq. 2012. Bluetongue sentinel surveillance program and cross-sectional serological survey in cattle in Belgium in 2010-2011. *Preventive Veterinary Medicine* 106: 235- 243.