

“Research article”

DOI: 10.30495/JVCP.2020.1880960.1246

Assessment of *Streptococcus equi* infection in apparently healthy working horses of Urmia region by indirect ELISA method

Minaii, E.¹, Araghi-Sooreh, A.^{2*}

1- Graduate of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.

2- Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.

*Corresponding author's email: a.araghi@iaurmia.ac.ir

(Received: 2020/5/3 Accepted: 2020/11/22)

Abstract

Strangles is one of the most important infectious diseases of equids caused by *Streptococcus equi* subspecies *equi*. The disease is characterized by fever, anorexia, lethargy, purulent nasal discharge, and lymphadenopathy, particularly of the lymph nodes of the head and neck. The objective of this study was to determine the seroprevalence rate of *S. equi* infection in apparently healthy working horses of Urmia region in northwestern Iran. Sera from 46 apparently healthy horses were tested by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) kit (ID Screen *S. equi* Indirect) to detect IgG to *S. equi* M protein (SeM) antigen. Data were analyzed for effect of sex and age on seropositivity by chi-squared, fisher's exact and logistic regression tests. A total of 73.9% (95% CI: 61.2-86.6%) of samples were positive for *S. equi* antibodies. Seropositivity was not affected by age ($p>0.05$) and sex ($p>0.05$). In regression analysis only age was significant between predictor variables. Odds of infection between the age based on year and disease was 1.403 (95% CI: 1.006-1.958), and age explained 0.339% of infection's fluctuations. The final summary of results indicates that exposure to *S. equi* is very high in apparently healthy working horses of Urmia region.

Conflict of interest: None declared

Keywords: *Streptococcus equi*, Horse, ELISA, Urmia.

"مقاله پژوهشی"

DOI: 10.30495/JVCP.2020.1880960.1246

ارزیابی آلودگی به استرپتوکوکوس اکویی در اسب‌های کار به ظاهر سالم منطقه شهرستان ارومیه به روش الیزای غیرمستقیم

اسماعیل مینایی^۱، آرش عراقی سوره^{۲*}

۱- دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات : a.araghi@iaurmia.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۹/۲/۱۴ پذیرش نهایی: ۹۹/۹/۲)

چکیده

گورم یکی از مهم‌ترین بیماری‌های عفونی اسب‌سانان می‌باشد که توسط استرپتوکوکوس اکویی تحت‌گونه اکویی ایجاد می‌شود. بیماری با تب، بی‌اشتهایی، بی‌حالی، ترشحات چرکی بینی و درگیری عقده‌های لنفی به ویژه در ناحیه سر و گردن مشخص می‌شود. هدف از مطالعه حاضر تعیین فراوانی سرمی آلودگی به استرپتوکوکوس اکویی در اسب‌های کار شهرستان ارومیه واقع در شمال غرب ایران بود. نمونه‌های سرمی از ۴۶ رأس اسب به ظاهر سالم اخذ و به روش الیزای غیرمستقیم برای ردیابی ایمونوگلوبولین جسی ضد پادگن SeM (*Streptococcus equi* M protein) آزمایش شد. همچنین داده‌ها برای تعیین اثر سن و جنس روی فراوانی موارد مثبت تجزیه و تحلیل شد. در کل ۷۳/۹ درصد (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۶۱/۲-۸۶/۶) از نمونه‌ها برای پادتن‌های استرپتوکوکوس اکویی مثبت بودند. فراوانی سرمی تحت تاثیر سن ($p > 0/05$) و جنس ($p > 0/05$) قرار نداشت. در آنالیز رگرسیون از میان دو متغیر پیش‌بینی کننده سن و جنس، تنها سن معنی‌دار بود ($p < 0/05$). یافته‌های مطالعه حاضر مشخص کرد که با افزایش یک سال سن احتمال آلودگی ۱/۴۰۳ برابر (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱/۹۵۸-۱/۰۰۶) افزایش می‌یابد و سن ۰/۳۳۹ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند. جمع‌بندی نهائی نتایج نشان داد که مواجهه بسیار بالا با استرپتوکوکوس اکویی در اسب‌های کار شهرستان ارومیه وجود دارد.

کلیدواژه‌ها: استرپتوکوکوس اکویی، اسب، الیزا، ارومیه.

مقدمه

گورم به عنوان یکی از شایع‌ترین و مهم‌ترین بیماری‌های عفونی اسب‌سانان در سراسر دنیا مطرح می‌باشد که توسط باکتری استرپتوکوکوس/کوبی تحت گونه اکویی ایجاد می‌شود (Sweeney et al., 2005; Hassanpour and Fartashvand, 2013). این باکتری بتاهمولتیک ارتباط نزدیکی با باکتری مقیم دستگاه تنفسی اسب‌سانان یعنی استرپتوکوکوس/کوبی تحت گونه زوپیدمیکوس دارد که عفونت‌های فرصت‌طلبانه ایجاد می‌کند (Holden et al., 2009). پروتئین M استرپتوکوکوس/کوبی (*Streptococcus equi* M protein; SeM) یک پادگن سطحی تولیدشده توسط تحت گونه اکویی است که باعث افزایش حدت باکتری مذکور نسبت به تحت گونه زوپیدمیکوس می‌گردد. پادگن SeM با اتصال به فیبرینوژن و ایمونوگلوبولین-جی از رسوب عناصر کمپلمان در سطح باکتری جلوگیری کرده و آن را از فاگوسیتوز حفظ می‌کند (Meehan et al., 2001). با توجه به واگیری زیاد بیماری گورم، میزان ابتلا می‌تواند بالا باشد، ولی مرگ‌ومیر آن معمولاً پایین است. تظاهرات بالینی بیماری به مقدار زیادی از یک درگیری کلاسیک دستگاه تنفسی فوقانی تا موارد نادر ولی بالقوه کشنده شامل دیس‌پنه حاد تنفسی، مشکل در بلع، چرکی شدن عقده‌های لنفاوی داخلی و پاسخ‌های با واسطه ایمنی، متغیر است. عامل بیماری به صورت مستقیم و غیرمستقیم منتقل می‌شود. اسب‌های جوان حساس‌تر هستند و دوره نهفتگی بیماری ۱ تا ۳ هفته می‌باشد (Sweeney et al., 2005; Whelchel and Chaffin, 2009). بهبودی در اکثر اسب‌ها بعد از چند هفته اتفاق

می‌افتد ولی ۱۰ درصد موارد با جایگزینی ارگانسیم عمدتاً در کیسه‌های حلقی، به حاملین مزمن تبدیل می‌شوند (Newton et al., 1997). عوامل مستعد در همه‌گیری‌های گورم شامل استرس از شیرگیری، تغییرات ناگهانی آب و هوایی، ازدحام، انگل‌ها و کمبود غذایی می‌باشد (Moraes et al., 2009). علی‌رغم جمعیت نسبتاً بالای تک‌سمی در ایران، مطالعات اپیدمیولوژیک در جهت نشان‌دادن شیوع واقعی استرپتوکوکوس/کوبی بسیار اندک بوده و محدود به یک مقاله منتشر شده از اسب‌های استان خوزستان می‌باشد (Mohammadi et al., 2016). نظارت و پایش ماندگاری استرپتوکوکوس/کوبی در جمعیت اسب‌های سالم بزرگ‌ترین چالش برای کنترل بیماری است و نقش اسب‌های حامل به‌عنوان یک فاکتور مهم در حفظ پاتوژن و منبع عفونت مابین همه‌گیری‌های گورم مشخص شده است (Newton et al., 2000). جداسازی عامل بیماری با ارزش‌ترین روش تشخیص آلودگی است، اما بدلیل سختی روش‌های نمونه‌گیری از مخاط نازوفارنکس و بخصوص کیسه‌های حلقی، روش‌های سرولوژیک نظیر الایزا به علت سهولت اجرای آن در بررسی‌های اپیدمیولوژیک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد (Hassanpour et al., 2013; Hashemi Mehrijardi et al., 2018). الایزای غیرمستقیم مبتنی بر پروتئین M/استرپتوکوکوس/کوبی با حساسیت ۸۹/۹ درصد و ویژگی ۷۷ درصد در شناسایی اسب‌های آلوده عمل می‌کند. اما نوعی از الایزای غیرمستقیم که دو فراگمان از پروتئین اختصاصی استرپتوکوکوس/کوبی را هدف قرار می‌دهد قادر به شناسایی مواجهه اخیر با حساسیت ۹۲ درصد و ویژگی ۹۱ درصد و شناسایی

گردید. آزمایش به روش غیرمستقیم با استفاده از کیت تجاری ID Screen S. equi Indirect محصول شرکت ID-VET فرانسه انجام شد، که برای ردیابی پادتن ایمنوگلوبولین جی ضد پادگن پروتئین M/ستریپتوکوکوس اکویی (SeM) در سرم اسب طراحی گردیده است. مراحل آزمایش طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام گرفت. پس از قرائت میکروپلیت در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه الیزا ریدر (شرکت بیوتک، آمریکا)، نتایج براساس نسبت مقدار جذب نوری سرم نمونه (OD sample) به میانگین جذب نوری سرم‌های کنترل مثبت (OD positive control) × ۱۰۰ (طبق فرمول زیر) محاسبه شد، به طوری که S/P% کمتر از ۱۰۰ منفی و مساوی یا بالای ۱۰۰ مثبت تلقی گردید.

$$S/P \% = \frac{OD_{Sample}}{OD_{PC}} \times 100$$

- تحلیل آماری داده‌ها: داده‌ها با استفاده از نرم افزار IBM SPSS Statistics 22 (SPSS₂₂)، شرکت شیکاگو، (USA, IL) تجزیه و تحلیل شد. یافته‌های توصیفی متغیرهای مورد مطالعه، شامل شاخص‌هایی از قبیل میانگین و انحراف معیار و فراوانی مطلق و نسبی محاسبه و گزارش گردید. برای بررسی وابستگی بین متغیرهای دموگرافیک (سن و جنس) اسب‌ها با فراوانی موارد سرمی مثبت از آزمون مجذور کای و آزمون دقیق فیشر استفاده شده و در صورت وجود تفاوت معنی‌دار، اختلاف بین گروه‌ها توسط آزمون تعقیبی بن‌فرونی مشخص گردید. همچنین جهت پیش‌بینی احتمال مشاهده موارد سرمی مثبت براساس متغیرهای دموگرافیک پیش‌بین از آزمون رگرسیون لجستیک چند

حاملین بدون علامت با حساسیت ۹۰/۹ درصد و ویژگی ۸۲/۶ درصد می باشد (Robinson et al., 2013).

با توجه به جمعیت بالای تک‌سمی به‌خصوص اسب در استان آذربایجان غربی که نقش به‌سزایی در اقتصاد استان دارد و فقدان اطلاعات ثبت‌شده در خصوص فراوانی سرمی و انتشار جغرافیایی باکتری استریپتوکوکوس اکویی در منطقه، ضرورت انجام تحقیق حاضر مشخص می‌شود. هدف از این مطالعه شناسایی اسب‌های کار سرم مثبت واجد پادتن‌های ضد استریپتوکوکوس اکویی برای اولین بار در شهرستان ارومیه بود.

مواد و روش‌ها

در اسفند ماه ۱۳۹۷ با مراجعه به ۸ روستای اطراف ارومیه و انتخاب تصادفی، در کل از ۴۶ رأس اسب کار (۲۵ رأس نر و ۲۱ رأس ماده) خون‌گیری به‌عمل آمد. جهت بررسی اثر سن بر روی فراوانی موارد مثبت سرمی، اسب‌ها به ۳ گروه ۴ سال و پایین‌تر (۷ رأس)، ۵ تا ۸ سال (۲۸ رأس)، ۹ سال و بالاتر (۱۱ رأس) تقسیم شدند. نمونه‌های خون در چند نوبت از ورید و داج اسب‌ها به مقدار ۵ میلی‌لیتر توسط ونوجکت (شرکت گرینر، آلمان) اخذ شد و درون لوله‌های ژل‌دار (شرکت گرینر، آلمان) و در مجاورت یخ در اسرع وقت به آزمایشگاه ایمنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه منتقل گردید. پس از سانتیفریوژ (شرکت پدیده نوژن پارس، ایران) و جداسازی سرم از خون، نمونه‌های سرم داخل میکروتیوب‌های استریل تا زمان آزمایش الیزا در فریزر (شرکت امرسان) نگهداری

متغیره استفاده شد. خطای مجاز برای رد فرض صفر (H_0)، ۵ درصد در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در کل از ۴۶ نمونه اخذشده از اسب‌های مناطق مختلف شهرستان ارومیه، تعداد ۳۴ نمونه (۷۳/۹ درصد) (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۸۶/۶-۶۱/۲) برای پادتن‌های ضد استرپتوکوکوس/کوبی مثبت بودند و تعداد ۱۲ نمونه (۲۶/۱ درصد) (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۳۸/۸-۱۳/۴) منفی تلقی شدند.

نتایج مطابق جدول ۱ نشان داد که از ۷ رأس اسب ۴ ساله و پایین‌تر تعداد ۳ رأس (۴۲/۹ درصد) و از ۲۸ رأس اسب ۸-۵ ساله تعداد ۲۱ رأس (۷۵/۰ درصد) و از ۱۱ اسب ۹ ساله و بالاتر تعداد ۱۰ رأس (۹۰/۹ درصد) از نظر سرمی در خصوص آلودگی به استرپتوکوکوس/کوبی مثبت بودند. همچنین داده‌های خروجی آزمون مجذورکای و آزمون دقیق فیشر نشان داد که با وجود افزایش شیوع آلودگی به استرپتوکوکوس/کوبی در اسب‌های با سن بالاتر، وابستگی معنی‌داری بین سن اسب‌ها و فراوانی موارد مثبت وجود ندارد ($X^2(2)=5/167, p=0/086 > 0/05$).

جدول ۱- نتایج آزمون مربع کای پیرس برای جدول متقاطع حدود تشخیصی متغیر درصد حساسیت مثبت استرپتوکوکوس/کوبی و سن اسب‌ها

متغیر	سن	استرپتوکوکوس/کوبی مثبت	استرپتوکوکوس/کوبی منفی	مقدار شاخص کای دو	درجه آزادی	ارزش p
حساسیت مثبت	۴ ساله و پایین‌تر	۳ (درصد ۴۲/۹)	۴ (درصد ۵۷/۱)	۵/۱۶۷	۲	۰/۰۸۶
	۵-۸ ساله	۲۱ (درصد ۷۵/۰)	۷ (درصد ۲۵/۰)			
	۹ ساله و بالاتر	۱۰ (درصد ۹۰/۹)	۱ (درصد ۹/۱)			

همچنین جدول ۲ نشان می‌دهد که از ۲۵ رأس اسب نر، تعداد ۱۷ رأس (۶۸/۰ درصد) و از ۲۱ اسب ماده، تعداد ۱۷ رأس (۸۱/۰ درصد) از نظر سرمی در خصوص آلودگی به استرپتوکوکوس/کوبی مثبت بودند.

داده‌های خروجی آزمون مجذورکای نشان داد که وابستگی معنی‌داری بین جنسیت اسب‌ها و فراوانی موارد مثبت استرپتوکوکوس/کوبی وجود ندارد ($X^2(1)=0/933, p=0/502 > 0/05$).

جدول ۲- نتایج آزمون مربع کای پیرس برای جدول متقاطع حدود تشخیصی متغیر درصد حساسیت مثبت استرپتوکوکوس/کوبی و جنسیت اسب‌ها

متغیر	جنس	استرپتوکوکوس/کوبی مثبت	استرپتوکوکوس/کوبی منفی	مقدار شاخص کای دو	درجه آزادی	ارزش p
حساسیت مثبت	نر	۱۷ (درصد ۶۸/۰)	۸ (درصد ۳۲/۰)	۰/۹۹۳	۱	۰/۵۰۲
	ماده	۱۷ (درصد ۸۱/۰)	۴ (درصد ۱۹/۰)			

اسب‌های مبتلا به گورم و سالم در تبریز بوده است (Kazemi *et al.*, 2013; Hassanpour and Fartashvand, 2013). همچنین در کل کشور ایران، تنها یک مطالعه اپیدمیولوژیک قبل از تحقیق حاضر بر روی اسب‌های سالم استان خوزستان در سال ۱۳۹۵ انجام شده است (Mohammadi *et al.*, 2016). مطالعه حاضر اولین تلاش در شناسایی فراوانی مواجهه اسب‌های سالم با استرپتوکوکوس اکویی در شهرستان ارومیه می‌باشد. در این تحقیق ۷۳/۹ درصد از جمعیت مورد بررسی دارای پادتن‌های ضد استرپتوکوکوس اکویی تشخیص داده شدند، اما در مطالعه مشابهی که در استان خوزستان به روش الیزا انجام گردید، ۳۷/۵ درصد از اسب‌ها مثبت گزارش شدند (Mohammadi *et al.*, 2016). گزارش شده است که تفاوت موجود می‌تواند ناشی از تفاوت‌های محیطی و جغرافیایی، نحوه پرورش و مدیریت و اندازه جمعیت تحت مطالعه باشد. بر این اساس در تحقیق انجام‌شده توسط سلون در سال 2013، اعلام شده که ازدحام نقش بسیار مهمی را در انتقال استرپتوکوکوس اکویی دارا است (Sellon, 2013). در مطالعه لیباردونی و همکاران در سال ۲۰۱۶ نیز نشان داده شده که شرکت کردن اسب‌ها در فعالیت‌های گروهی شانس ابتلا را ۱/۰۶ برابر بیشتر می‌کند. در همین مطالعه وجود سابقه ابتلا به گورم در گله یا ورود اسب‌های جدید با احتمال حامل بودن یا قرار داشتن در دوره کمون بیماری شانس آلودگی را ۳/۲ برابر افزایش می‌دهد. در ضمن طبق همین مطالعه استفاده مشترک از ظروف غذا شانس آلودگی با استرپتوکوکوس اکویی را ۳/۷ برابر زیادتر می‌کند (Libardoni *et al.*, 2016). همچنین در مطالعه‌ای در کشور عراق فراوانی سرمی

مدل رگرسیون لجستیک چند متغیره نیز در بررسی تاثیر سن و جنس در کل اسب‌های مورد مطالعه به لحاظ آماری معنی‌دار نبود و مدل از برازش لازم برخوردار بود ($X^2(2)=5/617, p=0/06 > 0/05$). همچنین مدل (R^2) (Nagelkerke)، ۱۶/۸ درصد از واریانس را برای استرپتوکوکوس اکویی توضیح داده و ۷۶/۱ درصد از موارد را به‌طور صحیحی طبقه‌بندی کرد. از میان دو متغیر پیش‌بینی‌کننده سن و جنس، تنها سن معنی‌دار بود. رگرسیون لجستیک نشان داد با افزایش یک‌سال سن اسب‌ها، احتمال آلودگی ۱/۴۰۳ برابر (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱/۰۰۶-۱/۹۵۸) افزایش می‌یابد ($p=0/046 < 0/05$) و سن اسب‌های شهرستان ارومیه ۰/۳۳۹ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند. رگرسیون لجستیک نشان داد که شانس آلودگی اسب‌های ماده ۲/۰۲۱ برابر (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۰/۴۷۸-۸/۵۴۹) اسب‌های نر است ($p=0/339 > 0/05$) و جنسیت ۰/۷۰۴ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

بحث و نتیجه‌گیری

علی‌رغم اهمیت بالینی بیماری گورم به‌عنوان یکی از سه بیماری مهم تنفسی اسب‌سانان (Harrington *et al.*, 2002)، مطالعات بسیار محدودی بر روی این بیماری در ایران انجام شده که محدود به گزارش یک همه‌گیری در کانون‌های نگه‌داری اسب در تهران (Noormohamadzadeh *et al.*, 1992)، ردیابی استرپتوکوکوس اکویی تحت گونه اکویی از طریق کشت در اسبان با علائم بیماری تنفسی فوقانی در مشهد (Jannatabadi *et al.*, 2008) و مقایسه اجزای سرم در

آلودگی به استرپتوکوکوس/اکویی در اسب‌های کار (۳۰/۹۶ درصد) بیشتر از اسب‌های مسابقه (۱۸/۵۲ درصد) گزارش شده است (Al-Gharban, 2017). علت بالا بودن آلودگی به عامل بیماری گورم در ارومیه نسبت به استان خوزستان شاید به همین دلیل باشد، اگرچه در مطالعه مشابه انجام گرفته در خوزستان، اشاره‌ای به نوع اسب (کار یا مسابقه) و محل نمونه‌گیری (روستا یا باشگاه) نشده است.

در سطح جهانی نیز مطالعات اپیدمیولوژیک و تعیین نقش عوامل خطر در شکل‌گیری بیماری گورم اندک می‌باشد. در مطالعات انجام شده در پاکستان ۴۵/۲ درصد (Ijaz et al., 2012)، در ایرلند ۴۲ درصد (Walshe et al., 2012)، در عراق ۲۹/۸۷ درصد (Al-Gharban, 2017)، در عربستان ۲۸ درصد (Ghamdi, 2012)، در کانادا ۱۸/۴ درصد (Clark et al., 2008)، در انگلستان ۱۳ درصد (Knowles et al., 2010)، در لستو آفریقا ۱۰/۱ درصد (Ling et al., 2011) و در برزیل ۲/۳ درصد (Libardoni et al., 2016) از اسب‌ها مثبت گزارش شده‌اند. به نظر می‌رسد که تفاوت‌های ثبت‌شده، به مقدار زیادی با روش نمونه‌برداری و آزمایش مورد استفاده نیز در ارتباط می‌باشد. به‌طوری‌که در تحقیق حاضر نمونه‌گیری به‌طور تصادفی و از اسب‌های فاقد نشانه‌های گورم یعنی ریزش بینی، سرفه و تورم عقده‌های لنفاوی اخذ گردید که صرفاً موارد مثبت، حاکی از مواجهه اسب‌ها با عامل بیماری است و شاخصی از حاملین نمی‌باشد، درحالی‌که در مطالعه کلارک و همکاران در کانادا، نمونه‌برداری از کیسه‌های حلقی انجام شده که به خوبی فراوانی (۱۸/۴ درصد) اسب‌های حامل را نشان می‌دهد (Clark et al.,

2008). همچنین در مطالعات انجام‌شده با روش سواب-گیری از بینی در آمریکا روی ۵۹۷۶ اسب (APHIS, 2001) و در برزیل روی ۱۰۱۰ اسب سالم (Lebardoni et al., 2016) هم، به ترتیب ۰/۰۵ درصد و ۲/۳ درصد برای کشت استرپتوکوکوس/اکویی مثبت گزارش شده است، درحالی‌که در مطالعه‌ای که در هند به همین روش بر روی ۸۸ اسب به ظاهر سالم از ۵ ناحیه متفاوت انجام شده، با روش کشت یا PCR قادر به شناسایی استرپتوکوکوس/اکویی نشده‌اند (Mir et al., 2013). همچنین دیویدسون و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند، از ۷۹ رأس پونی که در معرض باکتری استرپتوکوکوس/اکویی تحت گونه اکویی قرار گرفته بود، تعداد ۷۵ رأس در روش الایزای غیرمستقیم مثبت بودند (Davidson et al., 2008). همچنین در بررسی که در کشور عراق روی ۳۰ اسب سرم مثبت انجام گرفت، ۸۶/۶۷ درصد از سواب‌های اخذشده از بینی برای استرپتوکوکوس/اکویی مثبت بودند (Al-Gharban, 2017). در ایران نیز در مطالعه محمدی و همکاران که روی ۱۸۴ رأس اسب بدون نشانه‌های بالینی گورم انجام گرفته، ۶۹ مورد سرم مثبت بودند ولی در کشت سواب بینی مربوط به ۸۵ رأس اسب، باکتری استرپتوکوکوس/اکویی تحت گونه اکویی جدا نگردید (Mohammadi et al., 2016). بررسی نتایج تحقیقات مذکور نشان می‌دهد که باکتری استرپتوکوکوس/اکویی احتمالاً تمایل به مزمن شدن داشته و در عقده‌های لنفی و مخصوصاً کیسه‌های حلقی قرار می‌گیرد. بنابراین به نظر می‌رسد سواب‌گیری از بینی روش مناسبی در مطالعات اپیدمیولوژیک گورم نبوده و روش الایزا به سبب

سهولت اجرا و حساسیت بالاتر در مطالعات غربالگری بیشتر مفید فایده می‌باشد.

از طرف دیگر در بررسی حاضر شاهد افزایش موارد مثبت سرمی با افزایش سن اسب‌ها بودیم، اما این افزایش معنی‌دار نبود. ولی آنالیز رگرسیون نشان داد متغیر پیش‌بینی‌کننده سن معنی‌دار بوده و با افزایش یک‌سال سن، احتمال مواجهه $1/403$ برابر افزایش می‌یابد. اما در مطالعه انجام‌شده توسط محمدی و همکاران در خوزستان روی ۱۸۴ رأس اسب، این رابطه معنی‌دار بود و مطابق آزمون رگرسیون با افزایش یک سال سن شانس مواجهه ۱۰ درصد افزایش می‌یافت (Mohammadi et al., 2016). بدیهی است با افزایش سن، شانس مواجهه با/استرپتوکوکوس/اکویی در طول زمان نیز بالا می‌رود، البته شدت نشانه‌های بالینی در جوان‌ترها بیشتر است. ایزاج و همکاران نیز در بررسی خود در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که اسب‌های زیر ۲ سال سن نسبت به اسب‌های بالای ۲ سال سن، به طور معنی‌داری نسبت به باکتری حساس‌تر هستند (Ijaz et al., 2012). نور محمدزاده و همکاران نیز شدت نشانه‌های گورم را در جوان‌ترها بیشتر گزارش کردند (Noormohamadzadeh et al., 1992). در مطالعه انجام شده در عراق میزان آلودگی در اسب‌های زیر ۳ سال سن بیشتر از اسب‌های مسن‌تر بود (Al-Gharban, 2017).

اما بررسی حاضر همچنین نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین جنس و آلودگی وجود ندارد، هرچند میزان آلودگی در ماده‌ها به‌طور غیرمعنی‌داری بیشتر از نرها بود. در این ارتباط نتیجه کاملاً مشابه‌ای در مطالعه انجام‌شده روی اسب‌های خوزستان به‌دست آمده و

فراوانی موارد سرمی مثبت در ماده‌ها ($39/53$ درصد) به‌طور غیرمعنی‌داری بیشتر از نرها ($32/73$ درصد) بوده است (Mohammadi et al., 2016). در مطالعه القاریان در سال ۲۰۱۷ نیز میزان آلودگی در اسب‌های ماده ($30/81$ درصد) به‌طور غیر معنی‌داری بیشتر از اسب‌های نر ($28/68$ درصد) بود (Al-Gharban, 2017) و این نشان می‌دهد هر دو جنس به یک میزان در خطر ابتلا به آلودگی قرار دارند.

به‌طور کلی غربالگری مطالعه حاضر نشان داد که مواجهه با/استرپتوکوکوس/اکویی در جمعیت اسب‌های کار شهرستان ارومیه از فراوانی بسیار بالایی برخوردار است. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق بر اساس نوع مطالعه تخمین بیشتری از درگیری واقعی را نشان می‌دهد و بدلیل بالا بودن موارد مثبت سرمی، زنگ خطر جدی را برای مسئولان ذیربط به‌صدا درآورده است. به نظر می‌رسد که شناسایی اسب‌های حامل با مطالعات تکمیلی سرم‌شناسی و اندوسکوپی کیسه‌های حلقی و درمان آن‌ها و اصلاح روش‌های پرورشی و مدیریتی از جمله قرنطینه اسب‌های تازه وارد و کنترل مرزهای مشترک با کشورهای همسایه، می‌تواند از میزان شیوع آلودگی به/استرپتوکوکوس/اکویی در اسب‌های منطقه بکاهد.

سپاسگزاری

نویسندگان از مسئولین محترم آزمایشگاه ایمنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه و نیز روستائیان شریف منطقه شهرستان ارومیه به‌خاطر همکاری در اجرای تحقیق حاضر قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

منابع

- Al-Ghamdi, G.M. (2012). Serology study of *Streptococcus equi* in Saudi Arabia. *Veterinary Research*, 5(5): 107-109.
- Al-Gharban, H.A.A.J. (2017). Seroepidemiological detection and culture utilization for diagnosis of carrier horses and donkeys with strangles. *Journal of College of Education*, 28(1): 649-660.
- Animal and Plant Health Inspection Service (2001). Infectious upper respiratory disease in U.S. horses: Laboratory results for Influenza serology and nasal swab culture for *Streptococcus* Isolation. No: 343.
- Clark, C., Greenwood, S., Boison, J.O., Chirino-Trejo, M. and Dowling, P.M. (2008). Bacterial isolates from equine infections in western Canada (1998–2003). *Canadian Veterinary Journal*, 49(2): 153-160.
- Harrington, D.J., Sutcliffe, I.C. and Chanter, N. (2002). The molecular basis of *Streptococcus equi* infection and disease. *Microbes and Infections*, 4(4): 501-510.
- Hashemi Mehrijardi, H., Pormahdi Borujeni, M., Ghadrhan Mashhadi, A. and Siefi Abad Shapori, M. (2018). Seroprevalence and risk factors of equine influenza virus infection in horses of Khuzestan province. *Journal of Veterinary Clinical Pathology*, 1(45): 43-54. [In Persian]
- Hassanpour, A., Rezaei Saber, A.P. and Mofakhami, F. (2013). Serologic investigation of the prevalence of equine infectious anemia virus in Tabriz area. *Journal of Veterinary Clinical Pathology*, 2(14): 837-841. [In Persian]
- Hassanpour, A. and Fartashvand, M. (2013). Serum concentration of cardiac troponin and some enzymes in horses with strangles. *Journal of Veterinary Clinical Pathology*, 6(4): 1703-1708. [In Persian]
- Holden, M.T., Heather, Z., Paillot, R., Steward, K.F., Webb, K., Ainslie, F., et al. (2009). Genomic evidence for the evolution of *Streptococcus equi*: host restriction, increased virulence, and genetic exchange with human pathogens. *PLOS Pathogens*, 5(3): 1-14.
- Ijaz, M., Khan, M.S., Dourani, A.Z., Saleem, M.H., Chaudhry, A.S., Ali, M.M., et al. (2012). Prevalence and Biochemical Studies of Strangles (*Streptococcus equi*) Affected horses in Pakistan. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 22(2): 295-299.
- Jannatabadi, A.A., Mohammadi, G.R., Rad, M. and Maleki, M. (2008). Molecular identification of *Streptococcus equi* subsp. *equi* and *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus* in nasal swabs samples from horse suffering respiratory infections in Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(3): 468-471.
- Jorm, L.R. (1991). Strangles in horse studs: incidence, risk factors and effect of vaccination. *Australian Veterinary Journal*, 68(8): 282-283.
- Kazemi Asl, S.A., Hassanpour, A. and Amoughli Tabrizi, B. (2013). Comparative assessment the serum values of Iron, phosphorous and cobalt in both healthy and horses with strangles. *European Journal of Experimental Biology*, 3(1): 513-518.
- Knowles, E.J., Mair, T.S., Butcher, N., Waller, A.S. and Wood, J.L. (2010). Use of a novel serological test for exposure to *Streptococcus equi* subspecies *equi* in hospitalised horses. *Veterinary Record*, 166(10): 294.

- Libardoni, F., Machado, G., Gressler, L.L., Kowalski, A.P., Diehl, G.N., Santos, A.S.D., et al. (2016). Prevalence of *Streptococcus equi* subsp. *equi* in horses and associated risk factors in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. *Research in Veterinary Science*, 104(2): 53-57.
- Ling, A.S., Upjohn, M.M., Webb, K., Waller, A.S. and Verheyen, K.L. (2011). Seroprevalence of *Streptococcus equi* in working horses in Lesotho. *Veterinary Record*, 169(3): 72.
- Mohammadi, A., Pourmahdi Borujeni, M., Gharibi, D. and Ghadrhan Mashhadi, A. (2016). A serological survey on strangles disease in horses of some areas in Khuzestan province by ELISA. *Journal of Veterinary Research*, 71(4): 373-379. [In Persian]
- Meehan, M., Lynagh, Y., Woods, C. and Owen, P. (2001). The fibrinogen-binding protein (FgBP) of *Streptococcus equi* subsp. *equi* additionally binds IgG and contributes to virulence in a mouse model. *Microbiology*, 147(12): 3311-3322.
- Mir, I.A., Kumar, B., Taku, A., Faridi, F., Bhat, M.A., Baba, N.A., et al. (2013). Bacteriological and molecular detection of *Streptococcus equi* subsp. *equi* and *Streptococcus equi* subsp. *zooeconomicus* in equines of Northern India. *Journal of Equine Sciences*, 24(3): 53-55.
- Moraes, C.M., Vargas, A.P.C., Leite, F.P.L., Nogueira, C.E.W. and Turnes, C.G. (2009). Strangles: etiology, diagnosis and control. *Ciencia Rural*, 39(6): 1944-1952.
- Newton, J.R., Verheyen, K., Talbot, N.C., Timoney, J.F., Wood J.L.N., Lakhani K.H. et al. (2000). Control of strangles outbreaks by isolation of guttural pouch carriers identified using PCR and culture of *Streptococcus equi*. *Equine Veterinary Journal*, 32(6): 515-526.
- Noormohamadzadeh, F., Abdollahpour, F.G. and Khajeh-Nasiri, S.M. (1992). Epizootiological investigation of strangles in the equine stables in Tehran. *Journal of Equine Veterinary Sciences*, 12(6): 401-402.
- Davidson, A., Traub-Dargatz, J.L., Magnuson, R., Hill, A., Irwin, V., Newton, R., et al. (2008). Lack of correlation between antibody titers to fibrinogen-binding protein of *Streptococcus equi* and persistent carriers of strangles. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20(4): 457-462.
- Robinson C., Steward, K.F., Potts, N., Barker C., Hammond, T.A., Pierce, K., et al. (2013). Combining two serological assays optimises sensitivity and specificity for the identification of *Streptococcus equi* subsp. *equi* exposure. *Veterinary Journal*, 197(2): 188-191.
- Sellon, D. (2013). *Equine Infectious Diseases*. 2nd ed., Saunders, pp: 265-276.
- Sweeney, C.R., Timoney, J.F., Newton, J.R. and Hines, M.T. (2005). *Streptococcus equi* infections in horses: guidelines for treatment, control and prevention of strangles. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19(1): 123-134.
- Walshe, N., Johnston, J., MacCarthy, E. and Duggan, V.E. (2012). "Strangles" in less regulated sectors of the Irish horse industry. *Journal of Equine Veterinary Science*, 32(2): 633-647.
- Whelchel, D.D. and Chaffin M.K. (2009). Sequelae and complications of *Streptococcus equi* subspecies *equi* infections in the horse. *Equine Veterinary Education*, 21(3): 135-14.