"Research article" DOI: 10.30495/JVCP.2022.1938984.1323

Serological survey of Influenza A virus infection in horses of Mahabad city by ELISA method

Attari, A.[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: 2022/11/2 Accepted: 2022/2/27)

Abstract
Equine influenza is an acute, infectious, and highly contagious respiratory disease with a worldwide distribution. This study aimed to determine the seroprevalence of influenza A virus infection in horses of Mahabad city by competitive ELISA method. In this study, 200 serum samples were collected from horses in Beytas, Hamzeh abad, Lekben, Kovtar and Dehboker villages located in Mahabad city and then examined by competitive ELISA method. The prevalence of antibodies against the influenza A virus in the study population was 6% (with 95% confidence interval: 2.61-8.7%). Chi-square test showed no statistically significant relationship between the frequency of positive serum cases of influenza A and the sex of horses (p=0.354> 0.05). Horse breeds in the study population included Kurdish, Pony, Working and Arabian horses with 7.6%, 0%, 7.7% and 3.2% positive serum frequency, respectively. Data analysis showed there was no significant difference between the frequency of positive serum cases of influenza A virus and the studied breeds (p=0.402> 0.05). This study showed that the serum prevalence of influenza A in the study population is very low. Also, this is the first study to report the exposure of horses in Mahabad city to the Influenza A virus.
Conflict of interest: None declared.
Keywords: ELISA, Horse, Influenza virus, Mahabad.

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2022.1938984.1323

مطالعه فراوانی سرمی آلودگی به ویروس آنفلوانزا A در اسب‌های شهرستان مهاباد به روش الایزا

آرمین عطاری[۱]، آرش عراقی‌سوره[۲*]

۱- دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای، 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: ۱۴۰۰/۸/۱۱ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۱۲/۸)

چکیده

یکی از بیماری‌های حاد، عفونی، مسری تنفسی در اسب‌ها، آنفلوانزای اسبی است که در جهان گسترش دارد. در این مطالعه هدف ما تعیین سرمی میزان آلودگی به ویروس آنفلوانزای A در اسب‌های شهرستان مهاباد واقع در استان آذربایجان غربی به روش الایزای رقابتی است. از ۲۰۰ رأس در پنج نقطه جغرافیایی مختلف شهرستان مهاباد و باشگاه‌های اسب‌سواری آن مناطق از جمله: بیطاس، حمزه‌آباد، لک‌بن، کوتر و دهبکر خونگیری کرده و سرم تهیه شد و به روش الایزای رقابتی بررسی گردید. در جمعیت مورد مطالعه فراوانی شیوع آنتی‌بادی سرمی علیه ویروس آنفلوانزای A معادل ٦ درصد (با فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۸/۷-۲/٦۱ درصد) حاصل شد. ارتباط آماری معنی‌داری بین فراوانی موارد مثبت سرمی آنفلوانزای A و جنسیت اسب‌ها وجود داشت (p=۰/۳٤٥>۰/۰٥). ارتباط آماری معنی‌داری بین فراوانی موارد مثبت سرمی آنفلوانزای A و گروه‌های سنی اسب‌ها وجود نداشت (p=۰/۳٤٥>۰/۰٥). نژادهایی که در این جمعیت مورد بررسی قرار گرفتند: پونی، کرد، عرب و بومی بود که به ترتیب صفر درصد، ۷/٦ درصد، ۳/۲ درصد و۷/۷ درصد فراوانی مثبت سرمی رویت شد که با تجزیه و تحلیل داده‌ها وابستگی معنی‌داری میان فراوانی موارد مثبت ویروس آنفلوانزا A و نژادهای مورد مطالعه وجود نداشت (p=۰/٤۰۲>۰/۰٥). این بررسی اولین گزارش از آلودگی اسب‌های شهرستان مهاباد به ویروس آنفلوانزای A است.

کلیدواژه‌ها: اسب، ویروس آنفلوانزا، الایزا، شهرستان مهاباد.

مقدمه

یکی از بیماری‌های حاد تنفسی و واگیر در تک سمی‌ها (اسب، الاغ و قاطر) آنفلوانزای اسب می باشد. در جمعیت حساس اسب‌ها سرعت و میزان ابتلا بالاست (٦٠ الی ١٠٠درصد)، ولی تلفات بالایی ندارد (١ درصد). تلفات ٢٠ درصدی در کره‌اسب‌ها و قاطرها و الاغ‌هایی که سو تغذیه و اختلالات سیستم ایمنی دارند رخ می‌دهد (Park *et al*., 2009). این یک بیماری بومی در کشورهایی است که جمعیت اسبی بالایی دارند. ویروس آنفلوانزای A از خانواده ارتومیکسوویریده که دو تحت تیپ H_7N_7 و H_3N_8 دارد که عامل ویروسی آنفلوانزای اسبی می باشند. بیشتر مواقع انتقال بیماری زمانی رخ می‌دهد که یک اسب جدید که فرم تحت بالینی دارد و علایم بیماری را نشان نمی‌دهد را به جمعیت اسبی مورد نظر وارد کرده و اسب‌های دیگر ایمنی نسبی را دریافت نکرده باشند بیماری گسترش می‌یابد. ویروس توسط آیروسول‌های تنفسی اسب آلوده یا اجسام یا شخص‌هایی که بین اسب آلوده و سالم در تردد هستند انتقال داده می‌شوند (Lai *et al*., 2001). دو روز قبل از پایان دوره کمون و ٦ روز بعد از ظهور علایم از طریق ترشحات تنفسی ویروس را پخش و باعث ایجاد بیماری در اسب‌های سالم می‌شوند. در نتیجه ویروس بیشتر هنگام دوره کمون پخش می‌شود که ما از بیماری اطلاعی نداریم و سرعت پخش بیماری بسیار بالاست. هنگامی که تب در روز اول و دوم ایجاد می‌شود ویروس با سرعت زیادی پخش می‌شود. اسب‌های مبتلا با سرفه یا عطسه آیروسول‌های آلوده به ویروس را تا فاصله ٤٥ متری خود آلوده می‌کنند. ویروس توسط ادرار نیز پخش می‌شود، اکثریت اسب‌هایی که در معرض ویروس قرارگرفته‌اند به بیماری دچار می‌شوند که ٢٠ درصد تحت بالینی می‌باشند و آنها انتقال‌دهنده خوب ویروس می‌باشند، چون از گله جدا نمی‌شوند (Lai *et al*., 2001). مقاومت ویروس آنفلوانزا در سطوح مختلف دو روز می‌باشد. بیماری از طریق جابه‌جایی افراد، اسب و وسایل اسب‌سواری و حیوانات جدید دیگر پخش می‌شود. بیشترین جاهایی که اسب در آنجا بیمار می‌شود مکان‌های موقت از جمله اصطبل‌های نمایشگاه‌ها و مسابقات اسب‌دوانی است زیرا از تمام نقاط بدون رعایت تراکم و ایجاد فاصله مناسب در آنجا اسب‌ها گردهم می‌آیند (Beuttemmuller *et al*., 2012). سرعت انتشار بیماری در مراکز اصلاح نژاد و پرورش اسب نیز بالاست. علت پخش این بیماری در سطح جهانی، اکثریت اسب‌ها برای شرکت در مسابقه و نمایشگاه در اواسط بهار تا اواسط پاییز جابه‌جا می‌شوند (Park *et al*., 2009). گزارشاتی حاکی از درگیری سگ و انسان به ویروس آنفلوانزا داده شده است (Loureiro *et al*., 2004). ویروس آنفلوانزای اسب از نوع H_3N_8 به سگ‌هایی که در کنار اسب‌ها نگه‌داری می‌شوند انتقال پیدا می‌کند و علایمی همچون سرفه، تب خفیف و ذات‌الریه مرگبار ناشی از عوامل باکتریایی فرصت‌طلب ایجاد می‌شود. اغلب هنگامی بیماری شیوع پیدا می‌کند که حیوانات حساس در کنار یکدیگر بدون رعایت فاصله مناسب گردهم بیایند (مکان‌های فروش، میدان‌های اسب‌دوانی و نمایشگاه‌های اسب). مشاهده‌ها نشان داده است در حیواناتی که از نظر سیستم ایمنی ضعیف می‌باشند سرعت و گسترش بیماری بسیار بالاست (چند ساعت تا چند روز) (Beuttemmuller *et*

al., 2012). در حیواناتی که سیستم ایمنی بالایی دارند شیوع بیماری سرعت کمی دارد و ۳ الی ٤ هفته طول می‌کشد (Lai *et al.*, 2001). هدف از این مطالعه حاضر تعیین فراوانی سرمی آلودگی به ویروس آنفلوانزا A در اسب‌های شهرستان مهاباد از توابع استان آذربایجان‌غربی برای اولین‌بار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمعیت مورد مطالعه شامل ۲۰۰ رأس اسب است (۱۰۹ رأس نر و ۹۱ رأس ماده) از باشگاه‌های اسب‌سواری و روستاهای اطراف شهرستان مهاباد بود، که از این تعداد ۳ رأس ٤ سال به پایین، ۸۲ رأس ۵ الی ۸ سال و ٤۰ رأس بالای ۹ سال بودند. تعداد ۳۹ رأس اسب کرد، ۷ رأس اسب پونی، ۹۱ رأس اسب بومی و ٦۳ رأس اسب عرب بودند. از لحاظ منطقه نگهداری دهبکر ٥٤ اسب، کوتر ۱۹ اسب، لک‌بن ٦٦ اسب، حمزه‌آباد ۳۳ اسب و بیطاس ۲۸ اسب بودند. تمام مشخصات مذکور برای هر اسب در برگه‌های مخصوص ثبت و سپس اقدام به خونگیری از ورید وداج به طور استریل می‌شد. نمونه‌های خونی در شرایط سرد به آزمایشگاه ایمونولوژی دانشگاه آزاد اسلامی منتقل می‌گردید و نمونه‌های سرمی پس از جداسازی درون لوله‌های اپندورف تا زمان آزمایش درون فریزر نگه‌داری می‌شد.

در ابتدا در آزمایشگاه لوله‌های ژل‌دار را به دستگاه سانتریفیوژ منتقل کردیم تا سرم را جدا کنیم. طبق دستور دستگاه سانتریفیوژ شروع کار دستگاه ۱۵۰۰ دور به مدت ۳ دقیقه، دور بعدی ۳۰۰۰ دور به مدت ۲ دقیقه، دوباره ٤٥۰۰ دور به مدت ۲ دقیقه و مرحله نهایی ٦۰۰۰ دور به مدت ۳ دقیقه را انجام دادیم و سرم کاملا از خون جدا شد. بعد از جدا ساختن کامل سرم‌های خونی لوله‌ها را از دستگاه بیرون آوردیم و با سرنگ آنها را به میکروتیوپ‌ها منتقل کردیم (البته قبل از استفاده میکروتیوپ‌ها را کدگذاری کرده‌ایم تا با برگه‌های از پیش تهیه شده و لوله‌های ژل‌دار، کدها یکی باشند). برای آماده‌سازی در دستگاه الایزا ریدر (محصول شرکت بیوتک، آمریکا) نمونه‌ها را به دستگاه فریزر منتقل کردیم. طبق دستورات بروشور کیت سازنده ابتدا نمونه‌ها را از فریزر بیرون آورده و در محیط اتاق قرار دادیم، محلولی که در کیت بود را به نسبت ۱ به ۲۰ با آب مقطر دو بار تقطیر شستشو دادیم این کارها را قبل از آزمایش الایزا انجام دادیم. کیت الایزای مورد استفاده محصول شرکت IDvet فرانسه بود. طبق دستور العمل کیت، در آغاز آزمایش محلول بافر شماره دو را به تمامی میکروپلیت‌ها ریختم. سپس محلول کنترل مثبت را به A_1 وB_1 ریختیم و محلول کنترل منفی را به C_1 و D_1 اضافه کردیم. سپس به مدت ٤٥ دقیقه در دمای ۲۱ درجه سلسیوس پلیت‌ها در انکوباسیون قرار دادیم. در پایان انکوباسیون هر پلیت را سه بار با ۳۰۰ میکرولیتر محلول شستشو دادیم. محلول کونژوگه را به بافر شماره ۳ اضافه کردیم و به هر چاهک ریختیم و۳۰ دقیقه در دمای ۲۱ درجه سلسیوس انکوبه گردید. دوباره سه‌بار با محلول شستشو دادیم و بعد از اضافه کردن سوبسترا همه پلیت‌ها را ۱۵ دقیقه در دمای ۲۱ درجه سلسیوس انکوبه کردیم. بعد از اضافه کردن محلول ممانعت‌کننده به هر چاهک دستگاه الایزا ریدر آماده استفاده می‌شود کیت ما روی طول موج ٤٥۰

نانومتر است. طبق دستور شرکت سازنده کیت درصد S/N طبق فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$S/N\ \% = \frac{\text{OD Sample}}{OD_{NC}} \times 100$$

طبق دستور شرکت درصدهای ۵۰ یا بزرگتر، ٤۵ تا ۵۰ و درصدهای پایین تر از ۵۰ به ترتیب منفی، مشکوک ومثبت اعلام شدند.

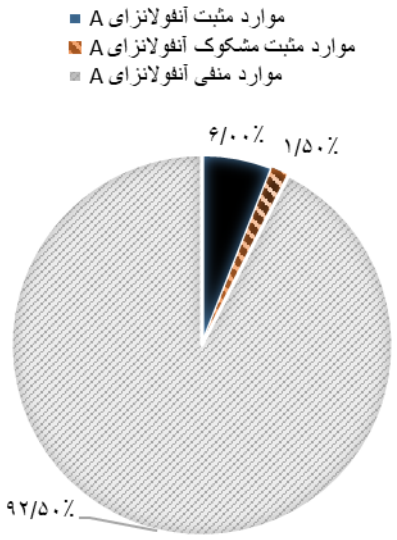
-**تحلیل آماری داده‌ها**: از نرم افزار IBM SPSS Statistics (SPSS، شرکت شیکاگو، IL، USA) برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها استفاده گردید. از آزمون مجذور کای و دقیق فیشر برای بررسی فراوانی موارد مثبت سرمی و وابستگی بین متغییرهای دموگرافیک (سن، جنس، نژاد و منطقه زندگی) استفاده شد و از آزمون تعقیبی بن‌فرونی برای مشخص کردن تفاوت بین گروه‌ها در صورت اختلافات فاحش استفاده گردید. آزمون رگرسیون لجستیک چند متغییره جهت پیش‌بینی احتمال مشاهده موارد مثبت سرمی براساس متغییرهای دموگرافیک مورد استفاده قرارگرفت.

رسم نمودارها توسط نرم افزار اکسل ۲۰۱٦ و خطای مجاز برای رد فرض صفر (H_0)، ۵ درصد در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در کل از ۲۰۰ نمونه اخذ شده از اسب‌های مناطق مختلف شهرستان مهاباد، تعداد ۱۲ نمونه (٦ درصد) (با فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ٦۱/۷–۲/۸ درصد) برای پادتن‌های ضد ویروس آنفولانزا A مثبت بودند (نمودار ۱). از لحاظ آماری هیچ رابطه‌ای میان سن، جنس، منطقه نگهداری و نژاد اسب‌ها با میزان فراوانی آنفلوانزا A در مدل لجستیک چند متغییره وجود نداشت ($X^2(۵)$= ۸/۰۰۳ ،p=۰/۱۵٦>۰/۰۵). با اینکه از میان تمامی متغییرهای پیش‌بینی‌کننده سن، جنس، نژاد و منطقه‌ی نگه‌داری همه آنها فاقد رابطه معنی‌دار بودند. ولی، مدل (Negelkerke R^2) واریانس بیماری آنفلوانزای A را به میزان ۱۲/٤ درصد بیان کرده وبه میزان ۹٤/٦ درصد از موارد را به طور صحیح دسته‌بندی کرده است. در جدول ۱ شانس آلودگی میان سن برحسب سال و بیماری ۲/٤٦۷ با فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ٦/۲٤۱–۰/۹۵۷ براساس رگرسیون لجستیک چند متغییره در کل اسب‌های شهرستان مهاباد نشان داده شد (p=۰/۰۵۷>۰/۰۵) و تنها ۰/۹۰۳ درصد از تغییرات بیماری در شهرستان مهاباد را سن اسب‌ها برعهده دارد (اگر ٤ سال سن اسب‌ها افزایش پیدا کند احتمال درگیری اسب‌ها به آنفلوانزای اسبی ۲/٤٦ برابر افزایش خواهدیافت). در جدول ۲ جنسیت نیز به میزان ۰/۵۵۰ درصد از تغییرات بیماری را برعهده دارد به عبارتی براساس رگرسیون لجستیک شانس آلودگی در اسب‌های نر ۱/۷۳۳ برابر نسبت به اسب‌های ماده می‌باشد که فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۷/۲٦۲-۰/٤۱٤ است (p=۰/٤۵۲>۰/۰۵). در جدول ۳ با یک تقسیم‌بندی بر اساس نتایج حاصل از رگرسیون لجستیک احتمال آلودگی بین روستاهای مختلف بررسی شد که ۰/۲۰۱ درصد از تغییرات بیماری را توجیه می‌کند؛ اسب‌های روستای دهبکر ۱/۹٤۷ برابر بیشتر از اسب‌های روستای حمزه‌آباد احتمال آلودگی دارند با فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱۲/۱۲٦–۰/۳۱۳

(p=۰/٤٥٧>۰/۰۵). اسب‌های روستای لک‌بن ۲/۱۷۹ برابر بیشتر از اسب‌های روستای حمزه‌آباد احتمال آلودگی دارند با فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱٦/۲٦٦-۰/۲ (p=۰/٤۸۸>۰/۰۵). اسب‌های روستای بیطاس ۲/۰٤۳ برابر بیشتر از اسب‌های روستای دهبکر با فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱۰/۹۲۳-۰/۳۸۲ (p=۰/٤۰۳>۰/۰۵)، ۳/۹۷۸ برابر بیشتر از اسب های روستای حمزه‌آباد با با فاصله اطمینان۹۵ درصد: ٦۲٤/۳٦۱-۰/۲۵ (p=۰/۱۱٤>۰/۰۵)، ۱/۸۲٦ برابر بیشتر از اسب‌های روستای لک‌بن با فاصله اطمینان۹۵ درصد: ۲۸۲/۸۷۵-۰/۱۱ (p=۰/۸۲۸>۰/۰۵) می‌باشد. در جدول ٤ با یک تقسیم‌بندی براساس نتایج حاصل از رگرسیون لجستیک احتمال آلودگی بین نژادهای مختلف بررسی گردید که ۰/۰۵۵ درصد از تغییرات بیماری را توجیه می‌کند؛ اسب‌های نژاد کرد ۱/٤۳۱ برابر بیشتر از اسب‌های بومی احتمال آلودگی دارند با فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ٦/۱۹۵-۰/۳۳۱ (p=۰/٦۳۱>۰/۰۵)، اسب‌های نژاد عرب ۲/۸۳۳ برابر بیشتر از اسب‌های کرد احتمال آلودگی دارند با فاصله اطمینان ۹۵ درصد:۱٦/۲٦۷-۰/٤۹٤ (p=۰/۲٤۳>۰/۰۵)، اسب‌های نژاد عرب ٤/۰۵٦ برابر بیشتر از اسب‌های بومی احتمال آلودگی دارند با فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ٦/۱۹۵-۰/۳۳۱ (p=۰/۱٤۷>۰/۰۵).



نمودار ۱- فراوانی نسبی شیوع سرمی آنفلوانزای A در اسب‌های مورد مطالعه شهرستان مهاباد

جدول ۱- نتایج آزمون مربع کای پیرسن برای جدول متقاطع حدود تشخیصی متغییر S/N% آنفلوانزای A و سن اسب‌ها

متغییر	سن	S/N=<45% آنفلوانزای A مثبت	S/N>٤٥% آنفلوانزای A منفی	شاخص کای دو	درجه آزادی	ارزش *p*
S/N% (آنفلوانزا)	٤ سال و پایین‌تر	صفر (۰/۰ درصد)	۷۸ (۱۰۰ درصد)	٦/٩٧٤	۲	۰/۰۱۵
	۵ الی ۸ سال	۸ (۹/۷۵ درصد)	۷٤ (۹۰/۲۵ درصد)			
	۹ سال و بالاتر	٤ (۱۰ درصد)	۳٦ (۹۰ درصد)			
	جمع کل	۱۲	۱۸۸			

جدول ۲- نتایج آزمون مربع کای پیرسن برای جدول متقاطع حدود تشخیصی S/N% آنفلوانزای A و جنسیت اسب‌ها

متغییر	جنسیت	S/N=<45% آنفلوانزا A مثبت	S/N>٤٥% آنفلوانزا A منفی	شاخص کای دو	درجه آزادی	ارزش *p*
S/N% (آنفلوانزا)	نر	۸ (۷/۳۳ درصد)	۱۰۱ (۹۲/٦۷ درصد)	۰/۹۷۵	۱	۰/۳٥٤
	ماده	٤ (٤/۳۹ درصد)	۸۷ (٦۱/۹۵ درصد)			
	جمع کل	۱۲	۱۸۸			

جدول ۳- نتایج آزمون مربع کای پیرسن برای جدول متقاطع حدود تشخیصی متغییر S/N% آنفلوانزای A و منطقه نگه‌داری اسب

متغییر	منطقه زندگی	S/N=<45% آنفلوانزای A مثبت	آنفلوانزای A منفیS/N>٤٥%	شاخص کای دو	درجه آزادی	ارزش *p*
S/N% (آنفلوانزا)	دهبکر	٤ (٧/٤ درصد)	٥٠ (٩٢/٦ درصد)	٤٩٣/٣	٤	٠/٥٠٥
	کوتر	٢ (١٠/٥ درصد)	١٧ (٨٩/٥ درصد)			
	لک‌بن	٣ (٤/٥ درصد)	٦٣ (٩٥/٥ درصد)			
	حمزه‌آباد	١ (٣/٠٣ درصد)	٣٢ (٩٦/٩٧ درصد)			
	بیطاس	٢ (٧/٢ درصد)	٢٦ (٩٢/٨ درصد)			
	جمع کل	١٢	١٨٨			

جدول ٤- نتایج آزمون مربع کای پیرسن برای جدول متقاطع حدود تشخیصی متغییر S/N% آنفلوانزای A و نژاد اسب‌ها

متغییر	منطقه زندگی	آنفلوانزا A مثبت S/N=<45%	آنفلوانزای A منفیS/N>٤٥%	شاخص کای دو	درجه آزادی	ارزش *p*
S/N% (آنفلوانزا)	کرد	٣ (٧/٦ درصد)	٣٦ (٩٢/٤ درصد)	٦٩٤/٢	٣	٠/٤٠٢
	پونی	صفر (٠/٠ درصد)	٧ (١٠٠ درصد)			
	بومی	٧ (٧/٧ درصد)	٨٤ (٩٢/٣ درصد)			
	عرب	٢ (٣/٢ درصد)	٦١ (٩٦/٨ درصد)			
	جمع کل	١٢	١٨٨			

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر برای اولین‌بار در منطقه مهاباد جهت بررسی فراوانی سرمی آلودگی به ویروس آنفلوانزا A در اسب‌ها انجام شد و مشخص شد ٦ درصد اسب‌های تحت مطالعه واجد پادتن‌های ضدویروس آنفلوانزا A هستند، البته ١/٥ درصد نیز مشکوک بودند. میزان شیوع در اسب‌های استان‌های مازندران ١١/٣٢ درصد، همدان ١٠/٧٢ درصد، آذربایجان‌شرقی ٩/٥٣ درصد، کرمانشاه ٧/٩ درصد (Hematian *et al*., 2017)، خوزستان ٧/٠٧ درصد (Hashemi Mehrjardi *et al*., 2018) و فارس ٢/٥ درصد (Badiei *et al*., 2013) گزارش شده است. همچنین در شهرستان‌های تبریز ٧ درصد (Hassanpour *et al*., 2014) و اهواز ٢ درصد (Gadardan Mashadi *et al*., 2010) از اسب‌های تحت مطالعه آلوده به ویروس آنفلوانزا A گزارش شده است. در ایران گزارشی مستند از وقوع همه‌گیری آنفولانزای اسبی وجود ندارد و فقط بصورت اندمیک گزارش شده است و درصد آلودگی در این کشور بسیار پایین می‌باشد. در سال ٢٠١٨ در پارک آبی اسپانیا مطالعه‌ای صورت گرفت که این پارک مکانی برای پرندگان مهاجر و آبزی از آفریقا بود و عامل اصلی افزایش معنی‌دار آنفلوانزای اسبی بود (Al-Khafaji and Hassan *et al*., 2016).

البته مراودات مرزی و واردات اسب از کشورهای دیگر در مناطق مرزی نیز بالارفتن میزان آلودگی را در پی دارد. آلودگی با ویروس آنفلوانزای اسبی در اسب‌های اسپانیا به میزان ۵۱/۹ درصد (Jurado-Tarifa *et al*., 2018)، نیجریه ٦٠/٩ درصد (Meseko *et al*., 2016)، برزیل ٤٥/٢ درصد (Silva *et al*., 2014)، مراکش ۵۲ درصد (Boukharta *et al*., 2012)، ترکیه ٤١/٨ درصد (Ataseven and Daly., 2007)، مکزیک ۳۹ درصد (Blitvich *et al*., 2010)، الجزایر ٢٤/٢٤ درصد (Berehi *et al*., 2012)، پاکستان ٢٤/١٢ درصد (Khan *et al*., 2018)، کرواسی ۱۲/۳ درصد (Barbic *et al*., 2018)، هندوستان ۱۲/۰۲ درصد (Mavadiya *et al*., 2012) و نیوزلند ۳۲ درصد (Horner *et al*., 1988) گزارش شده است. با تفسیر و تحلیل نتایج حاصل از شرایط‌های متفاوت از جمله شرایط آب‌وهوایی، سن، تعداد نمونه، نژاد، جنس، گونه، زمان، مدیریت و اقدامات پیشگیرانه، در کل جمعیت‌هایی که حساسیت بیشتری دارند بیماری در آنها بیشتر شایع است ولی جمعیت‌هایی که واکسن زده‌اند یا یکبار درگیر شیوع بیماری گشته‌اند، حساسیت کمتری دارند. ممکن است مطالعات انجام گرفته در کشورهای دیگر همزمان با همه‌گیری آنفلوانزا یا بعد از واکسیناسیون علیه بیماری آنفلوانزا بوده باشد لذا میزان آنتی‌بادی بیشتری در نمونه‌ها مشاهده شده است در حالی‌که در زمان مطالعه ما همه‌گیری آنفلوانزا و واکسیناسیون علیه این بیماری صورت نگرفته است. در کشور آرژانتین مطالعه‌ای بعد از همه‌گیری آنفولانزای اسبی انجام گرفت، اکثر نمونه‌های سرمی که دوره حاد بیماری قرار داشتند، آنتی‌بادی ضد تحت‌تیپ H_3N_8 ویروس را نداشتند ولی ۷/۷۱ درصد نمونه‌هایی که در دوره نقاحت بودند عیار آنتی‌بادی نسبت به این تحت‌تیپ را نشان دادند (Nosetto *et al*., 1989). در اثر عفونت حاصل از H_3N_8، مشخص شده است که میزان IgG اختصاصی ویروس کمتر از ٦٢ روز در خون ماندگار است. ولی در همین مدت بعد از افزایش اولیه IgM سرم به نصف تقلیل می‌یابد و حدود ۱۰ روز بعد از آلوده شدن میزان IgA سرم افزایش خواهدیافت و تا روز ٦٢ کاهش محسوسی را نشان نخواهد داد (Beech *et al*., 1991). هرچند در مطالعه ما با افزایش سن اسب‌ها درصد آلودگی افزایش می‌یابد، ولی در بررسی دیگر اسب‌های ۵-۲ سال به میزان بیشتری نسبت به ۱۰-۵ سال آلودگی را نشان دادند و اسب‌های بالای ۱۰ سال به ندرت آلوده بودند (Badiei *et al*., 2013). طبق مطالعاتی که در استان خوزستان انجام شد نشان داد که با ٤ سال افزایش سن ٦ درصد میزان ابتلا افزایش یافته و اسب‌های بالاتر از ۱۰ سال را با ۹/۱۷ درصد آلودگی گزارش داده‌اند (Hashemi Mehrjardi *et al*., 2018). قطعاً باید در نظرداشت با افزایش سن تماس با ویروس نیز بیشتر اتفاق می‌افتد. در مطالعه حاضر ارتباط معنی داری در آلودگی مناطق مختلف شهرستان مهاباد با ویروس آنفلوانزا A وجود نداشت، اگرچه مطالعات انجام شده در فارس (Badiei *et al*., 2013)، تبریز (Hassanpour *et al*., 2012) و خوزستان (Hashemi Mehrjardi *et al*., 2018) با نتایج ما همسو هستند. همچنین در بررسی دیگری ارتباط معنی‌داری میان منطقه جغرافیایی و میزان آلودگی وجود نداشت (Al-Khafaji and Hassan, 2016). از عمده خطرات برای اسب‌ها همسایگی آنها با دام‌های اهلی و وحشی مثل غازهای

وحشی، شترها و گوزن‌ها هستند. در مناطق شمالی و مرکزی چین میزان آلودگی و جمعیت اسب‌های وحشی مشخص نبود، ولی در سال ۲۰۰۷ همه‌گیری آنفلوانزا اتفاق افتاد که جمعیت Przewalski با تلفات ۵ درصدی روبرو شد (Yin *et al*., 2014). شرایط آب‌وهوایی و نحوه مدیریت در فراوانی آلودگی از اهمیت خاصی برخوردار است. برای مقابله با ویروس آنفلوانزا و جلوگیری از پیدایش سویه‌های جدید علیه انسان و تهدید و خطرات احتمالی انجام واکسیناسیون بسیار ضروری می‌باشد. البته پرندگان مهاجر نیز از مخازن مهم آلودگی هستند. وجود پادتن‌های ضدویروس آنفلوانزا A در اسب‌های مورد مطالعه در شهرستان مهاباد نشانه حضور ویروس است. بعضی از نمونه‌ها بدون علامت و حامل هستند که از عوامل اصلی پخش ویروس می‌باشند. البته در ایران به علت شیوع پایین آنفلوانزای اسبی استراتژی خاصی در واکسیناسیون اسب‌ها وجود ندارد، ولی به علت موقعیت مرزی شهرستان مهاباد و وجود تالاب‌ها و سدهای میزبان پرندگان مهاجر و مبادلات کالایی مرزی باید مدیریت این بیماری بیشتر مورد توجه قرارگیرد. لذا نقل و انتقال اسب‌ها از کشورهای همسایه و حتی استان‌های دیگر باید با رعایت موازین بهداشتی و اعمال قرنطینه همراه باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه بخاطر حمایت از اجرای تحقیق قدردانی می‌نماید.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع

- Al-Khafaji, M.M. and Hassan, I.Q. (2016). Identification of equine influenza A virus antibodies against nonstructural protein (NS1) enables differentiation among infected and vaccinated horses. Mirror of Research in Veterinary Sciences and Animals (MRVSA), 5(3): 15-32.
- Ataseven, V.S. and Daly, J.M. (2007). Seroepidemiology of equine Influenza Virus infection in Turkey. Turkish Journal Veterinary Animal Science, 31(3): 199-202.
- Badiei, K., Pourjafar, M., Samimi, A.S., Ansari-Lari, M., Mohammadi, A. and Ghane, M. (2013). Study on risk factors and serologic prevalence of antibodies against Equine Influenza virus in the south of Iran. Comparative Clinical Pathology, 23(4): 929-932.
- Barquero, N., Daly, J.M. and Newton, J.R. (2007). Risk factors for influenza infection in 270 vaccinated racehorses: lessons from an outbreak in New market, UK in 2003. Vaccine 25(43): 7520-7529.
- Beuttemmüller, E.A., Woodward, A., Rash, A., dos Santos Ferraz, L.E., Alfieri, A.F., Alfieri, A.A., *et al*. (2016). Characterization of the epidemic strain of H3N8 equine influenza virus responsible for outbreaks in South America in 2012. Virology journal, 13(1): 45-46.

- Bererhi, E.H., Kaboula, R., Bouaziz, O., Lakhdara, N. and Dib, A.L. (2012). Study of Equine Influenza in the region of Khenchela (Algeria). Agriculture and Biology Journal of North America, 3(4): 140-144.
- Blitvich, B.J., Ibarra-Juarez, L.A., Cortes-Guzman, A.J., Root, J.J., Franklin, A.B. and Sullivan, H.J., *et al*.(2010) . Seroprevalence of equine influenza virus in northeast and southern Mexico. Veterinary Record, 166(18): 565-566.
- Boukharta, M., Elharrak, M. and Ennaji, M. (2012). Seroepidemiological study on equine influenza in Morocco. European Journal of Scientific Research, 68(1): 147-153.
- Barbic, L., Savic, V., Kovacevic, K., Kapetan, J., Stevanovic, V. and Kovac, S., *et al*. (2018). Outbreak of equine influenza in Croatia in 2015 and post outbreak epidemiological situation. Veterinarski Fakultet Sveucilista u Zagrebu, 88(4): 437-451.
- Beech, J.(1991). Infections caused by viruses. In: Equine Respiratory Disorders. Lea & Febiger. Philadelphia, Pennsylvania. pp: 153-180
- Da Silva, A.A., Ranieri, T.M.S., Torres, F.D., Vianna, F.S.L., Paniz, G.R. and Sanseverino, P.B., *et al*. (2014). Impact on pregnancies in south Brazil from the influenza A (H1N1) pandemic: cohort study. Pubic Library of Science, 9(2): e88624.
- Ghadrdan Mashhadi, A.R., Seifi-Abad Shapoori, M.R. and Aghajani, V. (2010). A serological survey on Equine Influenza in Ahvaz. Veterinary Journal, 23(1): 59-64. [In Persian]
- Hassanpour, A., Amouoghlitabrizi B. and Khakpour M. (2013). Evaluation of cardiac markers and some serumic biochemical parameters in seropositive horses with equine influenza. Veterinary Clinical Pathology, 7(25): 1819-1843. [In Persian]
- Hassanpour, A., Semsar, P.Y. and Safarmashaei, S. (2012). Seroprevalence study of Equine Influenza in horses in Tabriz. Annals of Biological Research, 3(12): 5740-5743.
- Hasanpour, A., Vosoughy Irani, A. and Khakpour M. (2014). Seroprevalence Study of equine Influenza in horses in Ardebil area – Iran. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences, 4(3): 630-633.
- Hashemi Mehrjardi, S.H., Pourmahdi Borujeni, M., Ghadrdan Mashhadi, A.R., Siefiabad Shapori, M.R. (2018). Seroprevalence and risk factors of equine influenza virus infection in horses of Khuzestan province. Veterinary Clinical Pathology, 12(45): 43-54. [In Persian]
- Horner, G. and Ledgard, A. (1988). A serological survey for Equine Influenza in New Zealand. New Zealand Veterinary Journal, 36(4): 205-206.
- Jurado-Tarifa, E., Daly, J.M., Pérez-Écija, A., Barba-Recreo, M., Mendoza, F.J. and Al-Shuwaikh, A.M., *et al*. (2018). Epidemiological survey of equine influenza in Andalusia, Spain. Preventive Veterinary Medicine, 1(151): 52-56.
- Khan, S.U., Gurley, E.S., Gerloff, N., Rahman, M.Z., Simpson, N. and Rahman, M., *et al*. (2018). Avian influenza surveillance in domestic waterfowl and environment of live bird markets in Bangladesh, 2007–2012. Scientific Reports, 8(1): 1-10.
- Lai, A.C., Chambers, T.M., Holland, R.E. Jr., Morley P.S., Haines D.M. and Townsend H.G., *et al*. (2001). Diverged evolution of recent equine-2 influenza (H3N8) viruses in the Western Hemisphere. Archive of Virology, 146(6): 1063-1074.
- Minaei, E. and Araghi-Sooreh, A. (2020). Assessment of Streptococcus equi infection in apparently healthy working horses of Urmia region by indirect ELISA method. Veterinary Clinical Pathology, 14(55): 219-227. [In Persian]
- Mavadiya, S.V., Raval, S.K., Mehta, S.A., Kanani, A.N., Vagh, A.A. and Tank, P.H., *et al*. (2012). Epidemiological survey of equine influenza in horses in India. Revue Scientifique et Technique, 31(3): 871-875.
- Meseko, C.A., Ehizibolo, D.O., Nwokike, E.C. and Wungak, Y.S.(2016). Serological evidence of equine influenza virus in horse stables in Kaduna, Nigeria. Journal of Equine Science, 27(3): 99-105.

- Nosetto, E., Pecoraro, M., Galosi, M. and Massone, R. (1989). Isolation of an Equine influenza virus strain and epizootiological study of the 1985-86 outbreak in Argentina revue. Scientifiqueet Technique Office International des Epizooties, 8(1): 123-128.
- Park, A.W., Daly, J.M., Lewis, N.S., Smith, D.J., Wood, J.L.N. and Grenfell, B.T. (2009). Quantifying the impact of immune escape on transmission dynamics of influenza. Science, 326(5953): 726-728.
- Yin, X., Lu, G., Guo, W., Qi, T., Ma, J., Zhu, C., *et al*. (2014). Identification of equine influenza virus infection in Asian wild horses (Equus Przewalskii). Archives of Virology, 159(5): 1159-1162.