

میلوانسفالوپاتی ناشی از هرپس ویروس تیپ ۱ اسبی (گزارش موردی)

رضا سلیمانی دهکردی^۱، احسان احمدی اردکانی^{۲*}، حسن ممتاز^۳، سیدعلی افتخاری میبدی^۴

گروه علوم درمانگاهی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

دانشجوی دکتری حرفه ای دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

گروه میکروبیولوژی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

دانش آموخته دکتری حرفه ای دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

نویسنده مسئول: Email: Ehsanadn76@gmail.com

(دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۷/۱۰ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۸/۳۰)

چکیده

عفونت‌های حاصل از هرپس ویروس‌ها در جمعیت تک سمیمان در اکثر مناطق دنیا پراکنده می‌باشند و از میان آنها، هرپس ویروس تیپ ۱ (EHV-1) اسبی مهم‌ترین علت خسارات اقتصادی در صنعت اسب‌داری می‌باشد. دو مورد اسب مشکوک به میلوانسفالوپاتی با علائم آتاکسی و فلجی اندام خلفی، علائم تنفسی و ضایعات هرپس ویروس روی واژن در یکی اسب‌داری‌های شهرستان شهرکرد-چهار محال بختیاری، گزارش گردید. نمونه خون از مادیان مبتلا گرفته شد. جهت شناسایی هرپس ویروس تیپ ۱ اسبی در نمونه‌ها، از روش PCR استفاده شد. بافی کوت استخراج شده از آن‌ها در حفره‌ی آلتوتئیک تخم‌مرغ جنین‌دار و تیره‌ی سلولی RBK، تزریق شد. بعد از تزریق نمونه‌های آماده شده در تخم‌مرغ جنین‌دار و کشت سلولی مشخص شد که ویروس در جنین تخم‌مرغ قادر به رشد می‌باشد و باعث مرگ جنین می‌شود. یکی از مادیان‌هایی که تلف شد بود جهت ارزیابی ضایعات مغزی از نظر ماکروسکپی کالبدگشایی شد. در هنگام بررسی بافت مغز از نظر ماکروسکپی، میزان پروتئین مایع مغزی بیشتر از حد طبیعی بود شیارهای مغز نیز نرم شده بودند. در نهایت مطالعه حاضر وجود هرپس ویروس تیپ ۱ اسبی را که از عوامل اصلی ایجاد میلوانسفالوپاتی در اسب می‌باشد در شهرکرد استان چهارمحال و بختیاری تایید می‌کند.

واژگان کلیدی: هرپس ویروس، میلوانسفالوپاتی، EHV-1، اسب

مقدمه

قابل توجهی در صنعت اسب می‌شوند (Harless & Pusterla, ۲۰۰۶). علائم ناشی از ابتلا به این ویروس شامل: بی‌اشتهایی، تب بالا، ترشح از بینی، اختلال تنفسی ناشی از پنومونی بینابینی، آتاکسی خفیف تا زمین‌گیری کامل، میلوانسفالوپاتی و در نهایت مرگ می‌باشد (Burgess et al, ۲۰۱۲). خسارت اقتصادی ناشی از ابتلا به این ویروس به علت ابتلاء تعداد زیاد تک سمیان، از دست دادن زمان تمرین، از دست دادن شانس شرکت در مسابقه‌ها و قرنطینه اسب‌داری و منطقه و لغو مسابقات می‌باشد (Constable et al, ۲۰۱۷).

ترشحات بینی، تماس مستقیم، آلودگی با آئروسول، خوراک آلوده و تماس با تجهیزات آلوده همگی در انتقال این ویروس نقش بسزایی دارند (Walker et al, ۱۹۹۸). مانند همه ویروس‌های دیگر هرپس ویروس تیپ ۱ پس از عفونت در گانگلیون یا لنفوسیت‌ها به صورت نهفته باقی می‌ماند (Allen et al, ۲۰۰۴) در حیواناتی که اخیراً مبتلا شده‌اند، ویروس در هنگام استرس، تولد، از شیر گرفتن، حمل و نقل، تلقیح و تجویز کورتیکواستروئیدها مجدداً شروع به انتشار می‌کند (Foote et al, ۲۰۰۳).

از جنبه‌های مهم در اپیدمیولوژی هرپس ویروس‌ها وجود حالت نهفتگی و فعال شدن متناوب این ویروس‌ها است. این ویروس‌ها می‌توانند به شکل نهفته در حیوان میزبان درآیند و به دنبال فعال شدن مجدد در میزبان، بدون علامت منجر به انتشار عامل بیماری به حیوانات سالم حساس شوند (Allen et

امروزه اسب و صنعت اسب‌داری در کشور ما به شکل روزافزون در حال پیشرفت می‌باشد، بنابراین افزایش موارد بروز بیماری‌های مختلف در این صنعت دور از انتظار نیست. از جمله بیماری‌های با اهمیت در تک سمیان، بیماری‌های عفونی ویروسی می‌باشند که از میان آنها هرپس ویروس‌ها به دلیل گستردگی جهانی و فراوانی بیماری‌هایی که ایجاد می‌کنند از مهم‌ترین و خطرناکترین پاتوژن‌های تهدید کننده سلامت تک سمیان هستند (Momtaz, ۲۰۱۴). عفونت‌های حاصل از هرپس ویروس‌ها در جمعیت تک سمیان در تمامی مناطق دنیا پراکنده می‌باشند و از میان آنها، هرپس ویروس‌های تیپ ۱ (EHV-1) و ۴ (EHV-4) تک سمیان مهم‌ترین علت خسارات اقتصادی در صنعت تک‌سمیان می‌باشند (Allen et al, ۲۰۰۴). هر دوی این ویروس‌ها دارای DNA دو رشته‌ای خطی متعلق به تحت خانواده آلفا هرپس ویرینه و جنس واریسلوویروس هستند (Patel & Heldens, ۲۰۰۹; Pusterla et al, ۲۰۰۵). مشابه دیگر اعضای آلفا هرپس ویروس‌ها، هرپس ویروس تیپ ۱ و ۴ تک سمیان از نظر ژنتیکی و آنتی ژنیک بسیار به هم شبیه هستند (Carvalho et al, ۲۰۰۰).

آلودگی با هرپس ویروس تیپ ۱ تک سمیان عمدتاً منجر به بیماری تنفسی (Rhino pneumonitis) و بیماری عصبی می‌شود، که به دلیل شیوع پراکنده و اپیدمی سبب خسارات اقتصادی

روش تشخیص

پس از مراجعه دکتر دامپزشک مشخص شد که اسب‌های ذکر شده علائمی از جمله آتاکسی و فلجی اندام خلفی، علائم تنفسی و ضایعات هرپس و ویروس روی واژن را دارند. خون دو مادیاں مبتلا در لوله‌های آزمایش حاوی ماده‌ی ضد انعقاد EDTA ریخته شد. نمونه‌های خونی گرفته شده در ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و باقی کت استخراج شده از آن‌ها در حفره‌ی آلانئوئیک تخم‌مرغ جنین‌دار SPF و تیره‌ی سلولی RBK تزریق شد. DNA ژنومی از مایع آلانئوئیک تخم‌مرغ جنین‌دار و مایع آلوده‌ی کشت سلولی توسط کیت استخراج DNA (شرکت سیناژن ایران) مطابق دستورالعمل کیت، استخراج شد. جهت شناسایی هرپس ویروس تیپ ۱ اسبی در نمونه‌ها، از روش PCR طبق روش توصیه شده Carvalho و همکاران در سال ۲۰۰۰ استفاده شد. محصول PCR مربوط به ۱ نمونه از نمونه‌های مثبت شده در آزمایش PCR به منظور تعیین ردیف نوکلئوتیدی ژن تکثیر یافته با نمونه مثبت مطالعه تقی پور بازرگانی و همکاران (۱۳۹۳) به عنوان کنترل مقایسه شد. یکی از مادیاں‌هایی که زمین‌گیر شده بود تلف شد و جهت ارزیابی ضایعات مغزی از نظر ماکروسکپی کالبدگشایی شد. در هنگام بررسی بافت مغز از نظر ماکروسکپی، میزان پروتئین مایع مغزی بیشتر از حد طبیعی بود شیارهای مغز نیز نرم شده بودند. بعد از تزریق نمونه‌های آماده شده در تخم‌مرغ

(Harless & Pusterla, ۲۰۰۴; al,

بنابراین نیاز مبرم به یک روش حساس و ویژه که امکان تشخیص سریع بیماری بالینی و همچنین مراقبت از جمعیت‌های حساس را فراهم کند، وجود دارد (Hussey et al, ۲۰۰۶).

Real Time PCR یک روش حساس، ویژه، سریع و کمی در جهت تشخیص و مراقبت بیماری هرپس ویروس تک سمیان می‌باشد. (Hussey et al, ۲۰۰۶; Turan et al, ۲۰۱۲)

باتوجه به گزارشات متعدد از علائم مشکوک به میلوآنسفالوپاتی در اسب‌داری‌ها، این گزارش جهت ردیابی دقیق هرپس ویروس تیپ ۱ اسبی در شهرستان شهرکرد استان چهارمحال بختیاری با استفاده از روش مولکولی انجام شد.

تاریخچه

در مهر ماه سال ۱۳۹۹، دو مورد اسب مشکوک به میلوآنسفالوپاتی در یکی اسب‌داری‌های شهرستان شهرکرد-چهار محال بختیاری، گزارش گردید. اسب‌های مبتلا مادیاں‌های نژاد دره شوری دارای سن ۳ و ۴ سال و سه ماه آبستن بودند. با توجه به علائم مشاهده شده دکتر دامپزشک، مشکوک به میلوآنسفالوپاتی شد. جهت درمان اسب‌های مبتلا ویتامین C، فلونکسین، ب-کمپلکس و سرم قندی-نمکی تجویز شد. یکی از مادیاں به درمان پاسخ داد و بهبود یافت. دیگری که زمین‌گیر شده بود، تلف شد.

شدید فلجی در اسب‌های مبتلا از ویژگی‌های معمول شیوع میلوانسفالوپاتی است (Pusterla & Hussey, ۲۰۱۴). این گزارش نتایج مطالعه ما را تایید می‌کند بطوری‌که در مبتلایان ما نیز علائم تب، آتاکسی، فلجی اندام خلفی، علائم تنفسی، ضایعات هرپس ویروس روی واژن و زمین‌گیر شدن یکی از مادیان مشاهده شد. اما سقط جنین اتفاق نیفتاد این اختلاف می‌تواند به علت تفاوت در سن آبستنی باشد. سقط جنین معمولا در سه ماهه آخر آبستنی صورت می‌گیرد و جفت همراه با جنین دفع می‌شود. این ممکن است مربوط به وضعیت هورمونی و تغییر سیستم ایمنی بدن در سه ماهه آخر آبستنی باشد (Gardiner et al, ۲۰۱۲).

Lara و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که مایع مغزی نخاعی اسب‌های مبتلا به فرم عصبی هرپس ویروس تیپ ۱ اسبی، زرد رنگ و دانسیته‌ی بیشتری دارد و منبع خوبی برای جداسازی ویروس است. در مطالعه‌ی حاضر نیز هنگام بررسی ضایعات مغزی در یکی از مادیان تلف شده در اثر میلوانسفالوپاتی علایم فوق مشاهده شد.

همراه شدن نشانه‌های بالینی با حضور ویروس در خون بیانگر مرحله ویرمی ویروس و حضور عفونت فعال است. برای اثبات فعال بودن هرپس ویروس تیپ ۱ و توان ایجاد ویرمی از نمونه‌ی خون مربوط به مادیان دارای علایم عصبی قبل از مرگ جهت ردیابی ویروس استفاده شد. همبستگی مثبتی بین طول مدت ابتلا و میزان ویرمی و بروز

جنین‌دار و کشت سلولی مشخص شد که ویروس در جنین تخم‌مرغ قادر به رشد می‌باشد و باعث مرگ جنین می‌شود.

بحث و نتیجه‌گیری

هرپس ویروس تیپ ۱ در سراسر دنیا در اسب وجود دارد و تخمین زده می‌شود بیش از ۸۰٪ اسب‌ها به تازگی به ویروس آلوده شده باشند. به همین دلیل حذف ویروس دشوار است و باید تلاش برای پیشگیری و درمان بیماری‌های بالینی مرتبط با هرپس ویروس تیپ ۱ صورت بگیرد (Pusterla & Hussey, ۲۰۱۴).

در مطالعه حاضر از دو مورد مبتلا به هرپس ویروس تیپ ۱، یکی از اسب‌ها تلف شدند که نشان‌دهنده درصد تلفات زیاد این ویروس می‌باشد. Heldens و Patel نیز در سال ۲۰۰۵ میزان تلفات بالا در اثر ابتلا به هرپس ویروس تیپ ۱ را گزارش نمودند.

در بررسی حاضر مانند مطالعات Taktaz و همکاران در سال ۲۰۱۵ حضور این ویروس در اسب‌های بالغ جلب توجه می‌کند. در این خصوص به نظر می‌رسد با افزایش سن احتمال مواجهه با این ویروس افزایش یابد. چون اصولا اسب‌های بالغ برای تولیدمثل، مسابقات و تمرین استفاده می‌شوند بنابراین احتمال مواجهه با ویروس در این گروه از اسب‌ها افزایش می‌یابد.

بروز ناگهانی علائمی از جمله آتاکسی، بی‌اختیاری ادرار، تب، سقط جنین، علائم تنفسی و در موارد

در نهایت مطالعه حاضر وجود هرپس ویروس تیپ ۱ اسبی را که از عوامل اصلی ایجاد میلوآنسفالوپاتی در اسب می‌باشد در شهر کرد استان چهارمحال بختیاری با روشی حساس و ویژه تأیید کرد. با توجه به توانایی این ویروس در ایجاد حالت نهفتگی و فعال شدن مجدد و در نهایت انتشار آن در بین دام‌های سالم، به نظر می‌رسد برنامه‌ریزی برای کنترل و پیشگیری از پراکندگی این ویروس که می‌تواند منجر به خسارت‌های قابل توجهی به صنعت پرورش اسب کشور شود، ضروری و اجتناب ناپذیر باشد.

میلوآنسفالوپاتی وجود دارد و میلوآنسفالوپاتی بعید است در صورت عدم وجود ویرمی رخ دهد. بنابراین، ترکیبی از عوامل میزبان و ویروس احتمالاً تعیین کننده میلوآنسفالوپاتی است (Allen, ۲۰۰۸).

بررسی هیستوپاتولوژیک مغز و نخاع در تأیید عفونت هرپس ویروس تیپ ۱ در اسب مشکوک به میلوآنسفالوپاتی ضروری است. در بررسی انجام شده میزان پروتئین مایع مغزی زیادتر از حالت طبیعی بود. افزایش غلظت پروتئین مایع مغزی نخاعی (افزایش غلظت پروتئین ۱۰۰-۵۰۰ میلی گرم در دسی لیتر و افزایش نسبت آلبومین مایع مغزی نخاعی به غلظت آلبومین سرم)، جداسازی هرپس ویروس تیپ ۱ از دستگاه تنفسی و افزایش چهار برابری آنتی بادی سرم تأیید کننده علائم بالینی میلوآنسفالوپاتی می‌باشند (Burgess et al, ۲۰۱۲; Traub-Dargatz et al, ۲۰۱۳).

منابع

- Allen. G. P. (۲۰۰۸). Risk factors for development of neurologic disease after experimental exposure to equine herpesvirus-1 in horses. *American journal of veterinary research*, ۶۹(۱۲), ۱۵۹۵-۱۶۰۰.
- Allen. G. P., Kydd, J. H., Slater, J. D., Smith, K. C. (۲۰۰۴). Equid herpesvirus 1 and equid herpesvirus 2 infections. *Infectious diseases of livestock*, ۲, ۸۲۹-۸۵۹.
- Burgess. B. A., Tokatelloff, N., Manning, S., Lohmann, K., Lunn, D. P., Hussey. S. B., & Morley. P. S. (۲۰۱۲). Nasal Shedding of Equine Herpesvirus-1 from Horses in an Outbreak of Equine Herpes Myeloencephalopathy in Western Canada. *Journal of veterinary internal medicine*, ۲۶(۲), ۳۸۴-۳۹۲.
- Carvalho, R., Oliveira. A. M., Souza. A. M., Passos, L. M. F., & Martins, A. S. (۲۰۰۰). Prevalence of equine herpesvirus type 1 latency detected by polymerase chain reaction. *Archives of virology*, ۱۴۵(۹), ۱۷۷۳-۱۷۸۷.
- Foote. C. E., Gilkerson, J. R., Whalley, J. M., & Love. D. N. (۲۰۰۳). Seroprevalence of equine herpesvirus 1 in mares and foals on a large Hunter Valley stud farm in years pre-and postvaccination. *Australian veterinary journal*, ۸۱(۵), ۲۸۳-۲۸۸.
- Gardiner. D. W., Lunn, D. P., Goehring, L. S., Chiang, Y. W., Cook. C., Osterrieder, N., & Hussey. G. S. (۲۰۱۲). Strain impact on equine herpesvirus type 1 (EHV-1) abortion models: Viral loads in fetal and placental tissues and foals. *Vaccine*, ۳۰(۴۶), ۶۵۶۴-۶۵۷۲.
- Harless, W., & Pusterla, N. (۲۰۰۶). Equine herpesvirus 1 and 2 respiratory disease in the horse. *Clinical Techniques in Equine Practice*, ۹(۳), ۱۹۷-۲۰۲.
- Hussey. S. B., Clark. R., Lunn, K. F., Breathnach, C., Soboll, G., Whalley, J. M., & Lunn. D. P. (۲۰۰۶). Detection and quantification of equine herpesvirus-1 viremia and nasal shedding by real-time polymerase chain reaction. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, ۱۸(۴), ۳۳۵-۳۴۲.
- Lara. M. H., Cunha, E. M. S., Villalobos. E. M. C., Nassar, A. F. D. C., Asano, K. M., Fernandes, W. R., & Mori, E. (۲۰۰۸). First isolation of equine herpesvirus type 1 from a horse with neurological disease in Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico*, ۷۵(۲), ۲۲۱-۲۲۴.
- Momtaz. H. (۲۰۱۴). The first report of myeloencephalopathy caused by equine herpes virus type 1 in Iran. *Iranian Veterinary Journal*, ۱۰(۳), ۱۰۰-۱۰۳.
- Patel. J. R., & Heldens. J. (۲۰۰۵). Equine herpesviruses 1 (EHV-1) and 2 (EHV-2)—epidemiology, disease and immunoprophylaxis: a brief review. *The Veterinary Journal*, ۱۷۰(۱), ۱۴-۲۳.
- Pusterla, N., & Hussey. G. S. (۲۰۱۴). Equine herpesvirus 1 myeloencephalopathy. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, ۳۰(۳), ۴۸۹-۵۰۶.
- Pusterla, N., Hussey. S. B., Mapes, S., Leutenegger, C. M., Madigan, J. E., Ferraro, G. L., & Lunn, D. P. (۲۰۰۹). Comparison of four methods to quantify Equid herpesvirus 1 load by real-time polymerase chain reaction in nasal secretions of experimentally and naturally infected horses. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, ۲۱(۶), ۸۳۶-۸۴۰.
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W., & Constable, P. D. (۲۰۰۷). A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. *Veterinary medicine*, ۱۰, ۲۰۴۵-۲۰۵۰.
- Taktaz Hafshejani, T., Nekoei, S., Vazirian, B., Doosti, A., Khamesipour, F., & Anyanwu, M. U. (۲۰۱۵). Molecular detection of equine herpesvirus types 1 and 2 infection in healthy horses in Isfahan central and Shahrekord southwest regions, Iran. *BioMed research international*, ۲۰۱۵.
- Traub-Dargatz, J. L., Pelzel-McCluskey, A. M., Creekmore, L. H., Geiser-Novotny. S., Kasari, T. R., Wiedenheft, A. M., & Bjork. K. E. (۲۰۱۳). Case-control study of a multistate equine herpesvirus myeloencephalopathy outbreak. *Journal of veterinary internal medicine*, ۲۶(۲), ۳۳۹-۳۴۶.
- Turan, N., Yildirim, F., Altan, E., Sennazli, G., Gurel, A., Diallo, I., & Yilmaz. H. (۲۰۱۲). Molecular and pathological investigations of EHV-1 and EHV-2 infections in horses in Turkey. *Research in veterinary science*, ۹۳(۳), ۱۵۰۴-۱۵۰۷.
- Walker, C., Perotti, V. M., Love. D. N., & Whalley, J. M. (۱۹۹۹). Infection with equine herpesvirus 1 (EHV-1) strain HVS^YA in pregnant mice. *Journal of comparative pathology*, ۱۲۰(۱), ۱۵-۲۷.

Myeloencephalopathy caused by equine herpesvirus type 1 - a case report

Reza Soleymani Dehkordi¹, Ehsan Ahmadi Ardakani^{r*}, Hassan Momtaz^r, seyed ali Eftekhari Meybodi⁴

Department of Clinical Sciences, Shahrekord branch, Islamic Azad University, shahrekord, Iran¹

DVM student in Veterinary Medicine, Shahrekord branch, Islamic Azad University, Shahrekord, iran^{2}*

Department of Microbiology, Shahrekord branch, Islamic Azad University, shahrekord, Iran³

DVM Graduated, Shahrekord branch, Islamic Azad University, shahrekord, Iran⁴

Corresponding Author, s E.Mail : Ehsanadn76@gmail.com

(Received: Oct. 2021 Accepted: Nov. 2021)

Abstract

Herpes virus infections are prevalent in the monocotyledonous population in most parts of the world, and among them, equine herpesvirus type 1 (EHV-1) is the most important cause of economic losses in the horse supplies. Two cases of horses suspected of myeloencephalopathy with symptoms of ataxia and paralysis of the hind limbs, respiratory symptoms and herpes virus lesions on the vagina were reported in one of the horse supplies of Shahrekord-Chaharmahal Bakhtiari. Blood samples were taken from infected horses to identify herpes virus type 1 in the samples, PCR method was used. Samples extracted buffy-coat were used for inoculation in allantoic cavity of embryonated eggs and RBK cell culture. After injecting the prepared samples into the embryonated egg and cell culture, it was found that the virus is able to grow in the egg embryo and causes the death of the embryo. When the brain tissue was examined macroscopically, the protein content of the cerebrospinal fluid was higher than normal. The grooves in the brain were also softened. Finally, the present study confirms the presence of equine herpes virus type 1, which is one of the main causes of myeloencephalopathy in horses in Shahrekord, Chaharmahal Bakhtiari province.

Key words: Herpes virus, Myeloencephalopathy, EHV-1, Horse