بررسی شیوع سرمی و فاکتورهای خطر آلودگی به ویروس آنفلوانزای اسبی در اسبان استان خوزستان

سیدحمید هاشمی مهرجردی[۱]، مهدی پورمهدی بروجنی[۲*]، علیرضا قدردان مشهدی[۳]، مسعودرضا صیفی‌آباد شاپوری [٤]

۱- دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲- دانشیار گروه بهداشت و مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۳- استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

٤- استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: pourmahdim@scu.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹٦/۱/۲۱ پذیرش نهایی: ۹۷/۲/۹)

چکیده

آنفلوانزای اسبی یک بیماری حاد، عفونی و بسیار مسری تنفسی است که توزیع جهانی داشته و با میزان ابتلای بالا و میرایی کم همراه می‌باشد. بیماری در اسب توسط دو تحت تیپ H7N7 و H3N8 جنس A ویروس آنفلوانزا ایجاد می‌شود. مهم‌ترین علایم بالینی بیماری در اسب تب، سرفه و ترشحات بینی است. هدف از انجام مطالعه حاضر، تعیین میزان آلودگی و فاکتورهای خطر آنفلوانزای اسبی به روش الایزا در استان خوزستان بود. نمونه‌های خون از ۱۸٤ رأس اسب به‌صورت تصادفی از شهرهای اهواز، رامهرمز، شوش، شوشتر، ماهشهر و آبادان تهیه شد. شیوع سرمی ویروس آنفلوانزا ۷/۰۷ درصد (فاصله اطمینان ۹۵ درصد، ۱۰/۷۷-۳/۹۷ درصد) بود. رگرسیون لاجستیک چندمتغیره نشان داد که سن، جنس، سابقه بیماری تنفسی، سابقه خروج از استان، وضعیت بدنی، نوع استفاده، اندازه گله و موقعیت جغرافیایی ٤۵ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کنند. البته تنها سابقه خروج، روی آلودگی تأثیر معنی‌داری داشت (p<۰/۰۱). فراوانی نسبی موارد مثبت در اسبان دارای سابقه خروج و بدون سابقه خروج از استان به ترتیب ۱٦ و ۰/۹۲ درصد بود و شانس آلودگی اسبان دارای سابقه خروج ۲۰/۵۷ برابر (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱٦۱/۹۷-۲/٦۱) اسبان بدون سابقه خروج بود و این فاکتور ۲۱/٦ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کرد. این بررسی تأیید کرد ویروس آنفلوانزا در اسبان استان خوزستان وجود دارد و اقدامات کنترلی و پیشگیرانه باید مد نظر سیاست‌گذاران بهداشتی و اسب‌داران قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: اپیدمیولوژی، ویروس آنفلوانزا، سرولوژی، اسب، خوزستان.

مقدمه

استان خوزستان از زیستگاه‌های مهم پرورش اسب عرب در ایران می‌باشد و جمعیت قابل توجهی از این نژاد اسب در این استان نگه‌داری و پرورش می‌یابند. مسلماً این دام در اقتصاد ساکنین منطقه به‌طور مستقیم و غیرمستقیم تاثیرگذار بوده و گام برداشتن در زمینه تعیین شیوع بیماری‌های آن به‌ویژه بیماری‌های مشترک برای سیاست‌گذاران بهداشتی، دامپزشکان و اسب‌داران حائز اهمیت می‌باشد. آنفلوانزا یکی از بیماری‌های حاد، عفونی و بسیار مسری تنفسی اسبان است که توزیع جهانی داشته و با واگیری بسیار بالا و میرایی کم همراه می‌باشد. آنفلوانزای اسبی به‌وسیله سویه‌های تیپ A در مناطق زئونوتیک اتفاق می‌افتد. آنفلوانزای اسبی که در سراسر جهان شایع است، توسط سویه‌های equine-1 (H7N7) و equine-2 (H3N8) ایجاد می‌گردد (Beuttemmuller *et al*., 2016). آنفلوانزای اسبی به تنهایی خطرناک نمی‌باشد، اما در زمان برگزاری مسابقات مشکل‌آفرین بوده و با وقوع ناگهانی منجر به تعطیلی مسابقات برای چندین ماه می‌گردد (Daly *et al*., 1996)، از جمله دلایل آن می‌توان به عدم آمادگی اسب جهت شرکت در مسابقه تا حدود ۳ ماه اشاره کرد (Paradis, 2002). از مشکلات دیگر آنفلوانزای اسبی اختلال در برنامه آموزشی و تمرینی اسب‌ها و محدودیت در نقل و انتقال و خرید و فروش می‌باشد. انتقال ویروس آنفلوانزا به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم صورت می‌گیرد و میزان شیوع آلودگی در اسب وابسته به عوامل میزبانی نظیر سن، جنس، نژاد و وضعیت ایمنی و فیزیولوژیک، مدیریتی نظیر وضعیت بهداشتی و تراکم، محیطی مثل دما و رطوبت و نوع روش تشخیصی است (Radostits *et al*., 2007). اگرچه در اکثر مواقع نشانه‌های بالینی و سرعت گسترش بالای بیماری روش تشخیص بسیار مهمی است، اما استفاده از روش‌های آزمایشگاهی جهت تأیید تشخیص بسیار مفید خواهد بود. جداسازی ویروس از جمله با ارزش‌ترین روش‌های تشخیص آلودگی می‌باشد، اما علاوه بر صرف زمان، نیاز به امکانات آزمایشگاهی خاص می‌باشد و لذا روش‌های سرولوژیک نظیر الایزا و خنثی‌سازی ویروس به‌علت سهولت در بررسی‌های اپیدمیولوژیک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (Kinsley *et al*., 2016). با توجه به اهمیت بیماری آنفلوانزا در طب انسانی و دامی، در مطالعه حاضر احتمال حضور آلودگی و عوامل مؤثر در اسبان استان خوزستان با بهره‌بردن از روش الایزا مورد بررسی قرار گرفته است. امید است نتایج حاصل بتواند اطلاعات لازم را در اختیار سیاست‌گذاران بهداشتی و محققان دیگر قرار دهد تا بر اساس آن پروتکل‌های مناسب پیشگیرانه جهت جلوگیری از وقوع بیماری به اسب‌داران ارائه گردد.

مواد و روش‌ها

در این بررسی از ۱۸٤ رأس اسب نگه‌داری شده در ۲۷ باشگاه نگه‌داری اسب واقع در شهرهای اهواز، آبادان، شوشتر، شوش، ماهشهر و رامهرمز نمونه‌گیری به عمل آمد. خون‌گیری به کمک سرنگ و با رعایت اصول بهداشتی از ورید وداج صورت می‌گرفت. خون‌های اخذشده در کنار یخ به دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل می‌شد. هم‌زمان با خون‌گیری، مشخصات اسب‌های تحت بررسی شامل سن بر حسب

سال، جنس، سابقه بیماری تنفسی در ٦ ماه قبل، موقعیت جغرافیایی، سابقه خروج از استان، وضعیت بدنی (بر اساس وضعیت سر و گردن، سینه، ارتفاع بدن و وضعیت کپل به صورت خوب، متوسط و ضعیف)، نوع بهره‌برداری (مسابقه‌ای، تولیدمثل و مشترک) و اندازه گله (٤-۱، ۹-۵ و بالای ۱۰ رأس) نیز ثبت می‌شد (Cavinder, 2016).

در آزمایشگاه پس از جداسازی اتصالات لخته از جدار لوله‌های محتوی خون، لوله‌ها با دور ۳۰۰۰ در دقیقه و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند، تا سرم خون جدا گردد. سرم توسط سمپلر به آرامی از قسمت رویی لوله برداشته و به میکروتیوب‌هایی که از قبل کدگذاری شده بودند، منتقل می‌گردید. میکروتیوب‌ها تا زمان انجام آزمایش الایزا در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری می‌شدند.

جهت بررسی وجود آنتی‌بادی ضدویروس آنفلوانزا در سرم اسب‌های تحت بررسی، از کیت تجاری ساخت شرکت ID vet فرانسه استفاده گردید. این کیت بر مبنای الایزای رقابتی طراحی شده است و آنتی‌بادی ضد تحت‌تیپ‌های H1N1، H2N3، H3N2، H3N8، H5N1،H4N8، H5N2، H5N3، H6N2، H7N1، H7N3، H7N7، H8N4، H9N2، H9N7، H10N1، H11N6، H12N5، H13N6، H14N5 و H15N6 ویروس آنفلوانزا A با آن قابل ردیابی است (Badiei *et al*., 2013). در این کیت نمونه‌های سرمی اسب‌هایی که دارای آنتی‌بادی ضدویروس آنفلوانزا باشند، مانع از اتصال یک آنتی‌بادی کونژوگه ضدپروتئین NP به آنتی‌ژن موجود در کف حفره‌های پلیت می‌شوند. مراحل آزمایش الایزا طبق توصیه شرکت سازنده انجام گرفت و جذب نوری حفرات با استفاده از دستگاه قرائت‌کننده الایزا در طول موج ٤۵۰ نانومتر ثبت شد و بر اساس درصد شاخص S/N (درصد جذب نوری نمونه به میانگین جذب نوری سرم کنترل منفی) که با فرمول زیر محاسبه می‌شود، وضعیت مثبت یا منفی بودن نمونه‌های سرمی مورد آزمایش، تعیین گردید.

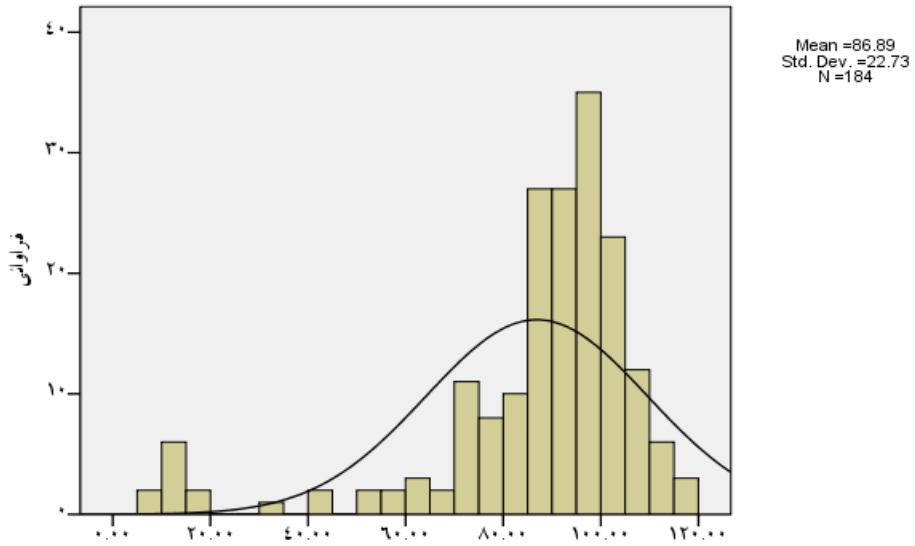
$$S/N = \frac{OD\ Sample}{OD\ Negative\ Control} \times 100$$

طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت، سرم‌های با درصد شاخص S/N مساوی و کمتر از ٤۵، مثبت، سرم‌های با درصد شاخص S/N بیشتر از ٤۵ و کمتر از ۵۰، مشکوک و سرم‌های با درصد شاخص S/N مساوی یا بیشتر از ۵۰، منفی محسوب شدند.

- **تحلیل آماری داده‌ها:** داده‌های جمع‌آوری‌شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ١٦ به‌طور توصیفی و تحلیلی بررسی شدند. به‌منظور تحلیل داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف، آزمون مربع کای و رگرسیون لاجستیک استفاده گردید. $p\leq$۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی دار آماری مد نظر قرار گرفت.

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار S/N نمونه‌های سرمی به ترتیب ۸٦/۸۹ و ۲۲/۷۳ درصد بود. در نمودار ۱ توزیع فراوانی مقادیر S/N و فراوانی موارد منفی و مثبت ارائه گردیده است. آزمون کولموگروف اسمیرنوف نشان داد که توزیع مشاهدات مربوط به S/N متقارن نمی‌باشد ($p<$۰/۰۰۱).



نمودار ۱- توزیع فراوانی درصد جذب نوری نمونه به میانگین جذب نوری سرم کنترل منفی ویروس آنفلوآنزا A در اسبان استان خوزستان

شیوع سرمی آنفلوآنزا A در اسبان تحت بررسی به‌طور کلی ۷/۰۷ درصد (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۳۷/۷۷-۳/۱۰ درصد) بود. در بررسی ۲۷ باشگاه نمونه‌گیری‌شده در ۹ باشگاه (۳۳/۳ درصد) آلودگی دیده شد. در جدول ۱ توزیع فراوانی موارد منفی و مثبت به تفکیک سن ارائه گردیده است. این جدول نشان می‌دهد که شیوع سرمی با افزایش سن افزایش می‌یابد هرچند آزمون مربع کای نشان داد، ارتباط معنی‌داری بین رده‌های سنی و آلودگی وجود ندارد ($p>0/05$). رگرسیون لاجستیک تک‌متغیره نشان داد که شانس آلودگی بین سن برحسب سال و بیماری ۱/۰۶ (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱/۱۷- ۰/۹۷) است ($p>0/05$) و با افزایش ۱ سال شانس آلودگی ٦ درصد افزایش می‌یابد و سن ۲/۱ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

جدول ۱- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی منفی و مثبت ویروس آنفلوآنزا A در اسبان استان خوزستان به تفکیک سن (سال)

فراوانی / دامنه سنی	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
۲-۰	۵۵	۹۸/۲۱	۱	۱/۷۹	٥٦	۳۰/٤۳
۹-۳	۹۱	۹۱/۹۲	۸	۸/۰۸	۹۹	٥۳/۸۱
≥۱۰	۲٥	۸٦/۲۱	٤	۱۳/۷۹	۲۹	۱٥/۷٦
جمع کل	۱۷۱	۹۲/۹۳	۱۳	۷/۰۷	۱۸٤	۱۰۰

در جدول ۲ توزیع فراوانی موارد سرمی منفی و مثبت به تفکیک جنس ارائه گردیده است. بررسی این جدول نشان می‌دهد که فراونی نسبی موارد مثبت در جنس ماده بیشتر از نر است، اما این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد ($p>0/05$). رگرسیون لاجستیک تک‌متغیره نشان داد که شانس آلودگی جنس ماده ۳/٤٦ برابر جنس نر (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱٦/۰۹- ۰/۷٤) است ($p>0/05$) و جنس، ٤/۳ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

جدول ۲- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی منفی و مثبت ویروس آنفلوآنزای A در اسبان استان خوزستان به تفکیک جنس

فراوانی / جنس	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
نریان	٦٦	۹۷/۰٦	۲	۲/۹٤	٦۸	۳٦/۹٦
مادیان	۱۰۵	۹۰/۵۲	۱۱	۹/٤۸	۱۱٦	٦۳/۰٤
جمع کل	۱۷۱	۹۲/۹۳	۱۳	۷/۰۷	۱۸٤	۱۰۰

در جدول ۳ توزیع فراوانی موارد سرمی منفی و مثبت به تفکیک سابقه خروج ارائه گردیده است. بررسی این جدول نشان می‌دهد که فراوانی نسبی موارد مثبت در اسبان با و بدون سابقه خروج به ترتیب ۱٦ و ۰/۹۲ درصد است که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ($p<0/001$). رگرسیون لاجستیک تک‌متغیره نشان داد که شانس آلودگی اسبان دارای سابقه خروج ۲۰/۵۷ برابر (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ٦۱/۹۷-۲/۱٦۱) اسبان بدون سابقه خروج است و سابقه خروج ۲۱/٦ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

جدول ۳- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی منفی و مثبت ویروس آنفلوآنزای A در اسبان استان خوزستان به تفکیک سابقه خروج

فراوانی / سابقه خروج	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
ندارد	۱۰۸	۹۹/۰۸	۱	۰/۹۲	۱۰۹	۵۹/۲٤
دارد	٦۳	۸٤	۱۲	۱٦	۷۵	٤۰/۷٦
جمع کل	۱۷۱	۹۲/۹۳	۱۳	۷/۰۷	۱۸٤	۱۰۰

در جدول ٤ توزیع فراوانی موارد منفی و مثبت به تفکیک موقعیت جغرافیایی ارائه گردیده است. این جدول نشان می‌دهد بیشترین موارد مثبت مربوط به شوش و آبادان است و در شوشتر و رامهرمز مورد مثبتی یافت نشد. ارتباط بین موقعیت جغرافیایی و آلودگی معنی‌دار نبود ($p>0/05$). رگرسیون لاجستیک تک‌متغیره نشان داد که موقعیت جغرافیایی ۱۵ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

جدول ٤- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی منفی و مثبت ویروس آنفلوآنزای A در اسبان استان خوزستان به تفکیک موقعیت جغرافیایی

فراوانی / موقعیت جغرافیایی	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
شوش	۳۰	۸۵/۷۱	۵	۱٤/۲۹	۳۵	۱۹/۰۲
ماهشهر	۲۱	۹۵/٤۵	۱	٤/۵۵	۲۲	۱۱/۹٦
شوشتر	۳۵	۱۰۰	۰	۰	۳۵	۱۹/۰۲
اهواز	۵۱	۹۱/۰۷	۵	۸/۹۳	۵٦	۳۰/٤۳
رامهرمز	۲۰	۱۰۰	۰	۰	۲۰	۱۰/۸۷
آبادان	۱٤	۸۷/۵	۲	۱۲/۵	۱٦	۸/۷
جمع کل	۱۷۱	۹۲/۹۳	۱۳	۷/۰۷	۱۸٤	۱۰۰

در جدول ۵ توزیع فراوانی موارد سرمی منفی و مثبت به تفکیک سابقه بیماری تنفسی ارائه گردیده است. بررسی این جدول نشان می‌دهد که فراوانی نسبی موارد مثبت در اسبان با و بدون سابقه بیماری تنفسی به ترتیب صفر و ۸/۰۷ درصد است که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵). رگرسیون لاجستیک تک‌متغیره نشان داد که سابقه بیماری تنفسی ٤/۹ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

جدول ۵- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی منفی و مثبت ویروس آنفلوآنزای A در اسبان استان خوزستان به تفکیک سابقه بیماری تنفسی

فراوانی / سابقه بیماری تنفسی	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
ندارد	۱٤۸	۹۱/۹۲	۱۳	۸/۰۷	۱٦۱	۸۷/۵
دارد	۲۳	۱۰۰	۰	۰	۲۳	۱۲/۵
جمع کل	۱۷۱	۹۲/۹۳	۱۳	۷/۰۷	۱۸٤	۱۰۰

در جدول ٦ توزیع فراوانی موارد سرمی منفی و مثبت به تفکیک وضعیت بدنی ارائه گردیده است. بررسی این جدول نشان می‌دهد که تمام موارد مثبت مربوط به رده بدنی خوب است، هرچند این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵). رگرسیون لاجستیک تک‌متغیره نشان داد که وضعیت بدنی، ۲/۵ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

جدول ٦- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی منفی و مثبت ویروس آنفلوآنزای A در اسبان استان خوزستان به تفکیک وضعیت بدن

فراوانی / وضعیت بدنی	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
ضعیف	۳	۱۰۰	۰	۰	۳	۱/٦۳
متوسط	۹	۱۰۰	۰	۰	۹	٤/۸۹
خوب	۱٥۹	۹۲/٤٤	۱۳	۷/٥٦	۱۷۲	۹۳/٤۸
جمع کل	۱۷۱	۹۲/۹۳	۱۳	۷/۰۷	۱۸٤	۱۰۰

در جدول ۷ توزیع فراوانی موارد سرمی منفی و مثبت به تفکیک نوع بهره‌برداری ارائه گردیده است. بررسی این جدول نشان می‌دهد که فراوانی نسبی موارد مثبت ارتباطی با نوع بهره‌برداری نداشت(p>۰/۰٥). رگرسیون لاجستیک تک‌متغیره نشان داد که شانس آلودگی اسبان با فعالیت تولیدمثل و مشترک نسبت به مسابقه‌ای به ترتیب ۱/۸۳ برابر (فاصله اطمینان ۹٥ درصد: ۹/۸٦- ۰/۳٤) و ۲/۸۳ برابر (فاصله اطمینان ۹٥ درصد: ۱٤/٦۸- ۰/٥٥) بود و نوع فعالیت ۲/٤ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

جدول ۷- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی منفی و مثبت ویروس آنفلوآنزای A در اسبان استان خوزستان به تفکیک نوع فعالیت

فراوانی / نوع بهره‌برداری	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
مسابقه‌ای	٥۰	۹٤/۳٤	۳	٥/٦٦	٥۳	۲۸/۸۱
تولیدمثل	٦۸	۹۳/۱٥	٥	٦/۸٥	۷۳	۳۹/٦۷
مشترک	٥۳	۹۱/۳۸	٥	۸/٦۲	٥۸	۳۱/٥۲
جمع کل	۱۷۱	۹۲/۹۳	۱۳	۷/۰۷	۱۸٤	۱۰۰

در جدول ۸ توزیع فراوانی موارد سرمی منفی و مثبت به تفکیک اندازه گله ارائه گردیده است. بررسی این جدول نشان می‌دهد که فراونی نسبی موارد مثبت با افزایش اندازه گله بیشتر می‌شود، هرچند این ارتباط از نظر آماری معنی دار نبود (p>۰/۰٥). رگرسیون لاجستیک تک‌متغیره نشان داد که شانس آلودگی اسبان با اندازه گله ۹-٥ رأس و ۱۰ و بیشتر رأس نسبت به ٤-۱ رأس به ترتیب ۲/۳٦ برابر (فاصله اطمینان ۹٥ درصد: ۲۷/۲٥- ۰/۲۱) و ۳/۹٤ برابر (فاصله اطمینان ۹٥ درصد: ۳۱/۸۱- ۰/٤۹) است و اندازه گله ۳/۳ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

جدول ۸- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی منفی و مثبت ویروس آنفلوآنزای A در اسبان استان خوزستان به تفکیک اندازه گله

فراوانی / اندازه گله	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
۱-٤ رأس	۳۹	۹۷/۵	۱	۲/۵	٤۰	۲۱/۷٤
۵-۹ رأس	۳۳	۹٤/۲۹	۲	۵/۷۱	۳۵	۱۹/۰۲
≥۱۰ رأس	۹۹	۹۰/۸۳	۱۰	۹/۱۷	۱۰۹	۵۹/۲٤
جمع کل	۱۷۱	۹۲/۹۳	۱۳	۷/۰۷	۱۸٤	۱۰۰

بررسی نقش متغیرهای تحت‌بررسی با رگرسیون لاجستیک چندمتغیره نشان داد که سن، جنس، سابقه بیماری تنفسی، سابقه خروج از استان، وضعیت بدنی، نوع استفاده، اندازه گله و موقعیت جغرافیایی ٤۵ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کنند، البته تنها سابقه خروج روی آلودگی تأثیر معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) داشت.

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، شیوع سرمی ویروس آنفلوآنزای A در اسبان استان خوزستان ۷/۰۷ درصد به‌دست آمد. هم‌سو با بررسی حاضر، میزان شیوع در مطالعه‌ای در ۱۹۲ رأس اسب در تبریز به روش الایزا، ۷/۳ درصد گزارش گردیده است (Hassanpour *et al*., 2012). همچنین این شیوع در ٦۰۰ رأس اسب در استان فارس به روش الایزا، ۲/۵ درصد و در ۱۰۰ رأس اسب در اهواز به روش مهار هماگلوتیناسیون (HI)، ۲ درصد بوده است (Badiei *et al*., 2013; Ghadrdan Mashhadi *et al*., 2010). میزان شیوع در ٥٦٦ رأس اسب در نیوزیلند به روش مهار هماگلوتیناسیون، ۳۲ درصد، در انگلیس به روش ایمونوفلوئورسانس غیرمستقیم، ۵۰ درصد، در ترکیه در ٦۲۳ رأس اسب به روش مهار هماگلوتیناسیون، ۳۱/۱ درصد، در مراکش در ۷۲٦ رأس اسب به روش تثبیت کمپلمان و مهار هماگلوتیناسیون، ۵۲ درصد، در الجزایر در ۱۳۲ رأس اسب، به روش تثبیت کمپلمان و مهار آگلوتیناسیون، ۲٤/۲٤ درصد، در نیجریه به روش الایزا در ۲۸٤ رأس اسب، ٦۰/۹ درصد و در عراق در ٤۲۳ رأس اسب به روش الایزا، ۳۱/۲ درصد گزارش گردیده است (Horner and Ledgard, 1988; Ataseven and Daly, 2007; Livesay *et al*., 1993; Boukharta *et al*., 2012; Bererhi *et al*., 2012; Al-Khafaji and Hassan, 2016; Meseko *et al*., 2016). در ایالت پنجاب هندوستان با بررسی ۱۵۰ رأس اسب به روش الایزا نشان دادند که ۱۰۰-۸۷/۵ درصد اسب‌ها نسبت به تحت تیپ H7N7 و ۸۸/٦-٦۱/۹ درصد نسبت به تحت تیپ H3N8 مثبت هستند (Gurkirpal *et al*., 1997). مقایسه اعداد فوق با نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهد میزان آلودگی در بررسی حاضر نسبت به بررسی‌های انجام گرفته در کشورهای خارجی به‌طور قابل توجهی کمتر می‌باشد و این اختلاف را می‌توان به روش تشخیصی، حجم نمونه، عوامل میزبانی نظیر سن،

جنس و نژاد، زمان نمونه‌گیری، آب و هوا و اقدامات بهداشتی و مدیریتی نسبت داد، به‌طوری که بیماری در جمعیت‌های حساس با واگیری زیاد همراه بوده و در جمعیت‌هایی که قبلاً آلوده شده‌اند و یا واکسیناسیون صورت گرفته، میزان آلودگی کمتر می‌باشد. البته بایستی توجه داشته باشیم که مواردی از آلودگی انفرادی دام‌های گله بدون درگیری سایرین در دسترس می‌باشد (Mumford *et al.*, 1994). همچنین ممکن است مطالعات انجام گرفته در سایر کشورها، در زمان حضور همه‌گیری بوده باشد و لذا مسلماً امکان آشکارکردن آنتی‌بادی‌ها بیشتر بوده است. این در حالی می‌باشد که در زمان بررسی مقطعی حاضر، هیچ‌گونه نشانه‌ای از همه‌گیری آنفلوانزا در اسبان منطقه وجود نداشت و واکسن آنفلوانزا نیز برای اسبان استفاده نمی‌شد. در مطالعات انجام‌شده روی عفونت‌های حاصل از ویروس H3N8، مشخص گردیده است میزان IgG اختصاصی ویروس برای مدت کمتر از ٦٢ روز در خون باقی می‌ماند. در حالی‌که در همین مدت، از مقدار IgM سرم (پس از افزایش اولیه) به میزان ۵۰ درصد کاسته می‌شود و تقریبا ۱۰ روز بعد از آلودگی، میزان IgA سرم افزایش یافته و تا روز شصت و دوم مقدار آن کاهش زیادی نشان نداده است (Beech, 1991). در مطالعه‌ای که در کشور آرژانتین به دنبال همه‌گیری آنفلوانزا در آن کشور صورت گرفت، بیشتر نمونه‌های سرمی به‌دست‌آمده در فاز حاد بیماری فاقد آنتی‌بادی ضد تحت‌تیپ H3N8 ویروس بودند، این در حالی است که ۷۱/۷ درصد نمونه‌های اخذشده در دوره نقاهت، عیار آنتی‌بادی نسبت به این تحت‌تیپ را نشان دادند. بررسی نمونه‌های سرمی ٦ ماه پس از آلودگی، نشان داد که عیار آنتی‌بادی تنها در ۹ درصد این دام‌ها وجود دارد (Nosetto *et al.*, 1989). البته، باید توجه داشت که گاهی اوقات وجود آنتی‌بادی‌ها را می‌توان تا ۱۸ ماه پس از آلودگی ارزیابی کرد (Beech, 1991).

این بررسی نشان داد سن ارتباط معنی‌داری با آلودگی ندارد، هر چند شانس آلودگی با افزایش هر سال به سن، ٦ درصد افزایش می‌یافت. مسلماً با افزایش سن شانس تماس با ویروس آنفلوانزا نیز افزایش می‌یابد. نبود رابطه آماری بین سن و آلودگی ممکن است واقعی باشد، اما نبایستی از حجم نمونه و فراوانی اندک موارد مثبت غفلت نمود. هم‌سو با این بررسی، در عراق با مطالعه روی اسب‌های ۲۵-۱ سال نشان دادند ارتباط معنی‌داری بین میزان ابتلا و سن وجود ندارد (Al-Khafaji and Hassan, 2016). این در حالی است که در هند نشان دادند اسب‌های یک‌ساله بیشترین میزان آلودگی (۱۷/٤۸ درصد) به ویروس آنفلوانزای اسبی را دارا هستند (Mavadiya *et al.*, 2012). در بررسی دیگری نشان دادند بیشترین میزان آلودگی به ویروس آنفلوانزای اسبی مربوط به سنین ۵-۲ سال و به میزان کمتر مربوط به سنین ۱۰-۵ سال می‌باشد و اسبان با سن بالای ۱۰ سال به ندرت آلوده می‌گردند (Badiei *et al.*, 2013). همچنین در یک بررسی در بیش از ۸۰۰۰ رأس اسب در ایالات متحده مشخص شد که تنها ۲۰/۲ درصد اسب‌های ۱۷-٦ ماهه دارای عیار پادتن قابل تشخیص آنفلوانزا در آزمایش مهار هماگلوتیناسیون بودند. این در حالی است که ۸۹ درصد اسب‌های با سن ۲۰ سال یا بالاتر، دارای عیار بودند. درصد اسبان با عیار آنتی‌بادی بالا با افزایش سن زیاد می‌شود، به طوری‌که ٤۵-۵۱ درصد اسبان بالای ۵ سال دارای عیار آنتی‌بادی

بالایی بودند و این نکته بیانگر این است که اسبان مسن‌تر ایمنی را از دو راه ابتلای طبیعی و واکسیناسیون کسب می‌کنند (Powell *et al*., 1995).

در بررسی حاضر، هر چند فراوانی نسبی موارد مثبت در جنس ماده بیشتر از نر بود، اما این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. هم‌سو با بررسی حاضر در بررسی دیگری نشان دادند میزان آلودگی در جنس ماده بیشتر از نر است (Badiei *et al*., 2013). بررسی‌های انجام گرفته در آمریکا و ایران نشان داده است ارتباط معنی‌داری بین جنس و آلودگی به ویروس آنفلوانزای اسبی وجود ندارد (Hassanpour *et al*., 2012; Nyaga *et al*., 1980). البته مطالعات دیگر نشان داده است آلودگی در جنس نر بیشتر از ماده است (Mavadiya *et al*., 2012; Al-Khafaji and Hassan, 2016).

در این بررسی فراوانی نسبی موارد مثبت در اسبان با و بدون سابقه خروج از استان به ترتیب ۱۶ و ۰/۹۲ درصد بود که این اختلاف از نظر آماری نیز معنی‌دار بود و این فاکتور در رگرسیون چندمتغیره به‌عنوان فاکتور خطر شناسایی شد. مسلماً استرس خروج از استان برای مسابقه و همچنین افزایش تراکم در هنگام مسابقه و سهولت در انتقال ویروس در این اختلاف تاثیرگذار است. محققین مشخص نمودند استرس نقل و انتقال در آلودگی تاثیرگذار است (Al-Khafaji and Hassan, 2016). در این بررسی فراوانی نسبی موارد مثبت در اسبان با و بدون سابقه بیماری تنفسی اختلاف آماری معنی‌داری نداشت و به‌نظر می‌رسد ویروس آنفلوانزا نقش به‌سزایی در درگیری دستگاه تنفسی اسبان منطقه ندارد. این مطالعه نشان داد که تمام موارد آلودگی مربوط به رده بدنی خوب هستند، هرچند این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. البته، بر خلاف بررسی حاضر، بدیعی و همکاران در سال ۲۰۱۳ بیان کردند که بیشترین میزان آلودگی در اسب‌هایی که از نظر بدنی ضعیف هستند، رخ می‌دهد (Badiei *et al*., 2013).

در بررسی حاضر مشخص شد که فراوانی نسبی موارد مثبت ارتباطی با نوع بهره‌برداری ندارد. هم‌سو با این بررسی نشان داده شده است که ارتباط معنی‌داری بین نوع فعالیت اسب و آلودگی وجود ندارد (Badiei *et al*., 2013)، اما در بررسی دیگری بیان شده است نوع استفاده از اسب‌ها در میزان آلودگی به آنفلوانزا نقش دارد (Ataseven and Daly, 2007). در بررسی دیگری نیز نشان دادند نوع آموزش با آلودگی ارتباط دارد (Al-Khafaji and Hassan, 2016).

در این بررسی مشخص شد که فراوانی نسبی موارد مثبت با افزایش اندازه گله بیشتر می‌شود، هرچند این ارتباط از نظر آماری معنی‌دار نبود. مسلماً با افزایش اندازه گله امکان برقرای تماس مؤثر برای انتقال ویروس آنفلوانزا بیشتر خواهد شد. در بررسی حاضر ارتباط بین موقعیت جغرافیایی و آلودگی معنی‌دار نبود هر چند تنها در شوش، ماهشهر، اهواز و آبادان آلودگی رویت گردید و در شوشتر و رامهرمز آلودگی رؤیت نشد. همسو با این نتایج بدیعی و همکاران در سال ۲۰۱۳ اعلام نمودند ارتباط معنی‌داری میان مناطق جغرافیایی در استان فارس و آلودگی وجود ندارد (Bdiei *et al*., 2013). همچنین در بررسی دیگری ارتباط معنی‌داری بین میزان آلودگی و منطقه جغرافیایی در عراق وجود نداشته است (Al-Khafaji and Hassan, 2016). البته نبایستی غافل از این موضوع بود که وضعیت آب و هوایی و مدیریتی در

مناطق مختلف می‌تواند در فراوانی آلودگی تاثیرگذار باشد.

بررسی حاضر نشان داد که ویروس آنفلوانزای اسبی در اسبان استان خوزستان وجود دارد و سابقه خروج از استان تاثیر معنی‌داری بر آلودگی دارد. بنابراین، انجام قرنطینه برای اسبانی که می‌خواهند وارد استان شوند مد نظر سیاست‌گذاران بهداشتی قرار بگیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به‌خاطر تأمین هزینه اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تضاد 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): 15-23.
- 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.
- Beech, J. (1991). Equine Respiratory Disorders. USA: Philadelphia: Lea & Febiger, pp: 161-167.
- 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.
- Beuttemmuller, 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.
- Boukharta, M., Elharrak, M. and Ennaji, M. (2012). Seroepidemiological study on equine influenza in Morocco. European Journal of Scientific Research, 68(1): 147-153.
- Cavinder, C. (2016). Body condition scoring system benefits for horses and owners. Mississippi State University Extension. Publication Number: P2947.
- Daly, J.A.C., Binns, M.M., Chambers, T.M., Barrandeguy, M. and Mumford, J. (1996). Antigenic and genetic evolution of equine H3N8 influenza A viruses. Journal of General Virology, 77(1): 661-671.
- 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]
- Gurkirpal, S. (1997). Serological observation on an epidemic of Equine Influenza in India. Journal of Equine Veterinary Science, 17(7): 380-384.
- 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.
- Horner, G. and Ledgard, A. (1988). A serological survey for Equine Influenza in Newzealand. Newzealand Veterinary Journal, 36(4): 205-206.

- Laabassi, F., Lecouturier, F., Amelot, G., Gaudaire, D., Mamache, B., Laugier, C., *et al*. (2015). Epidemiology and genetic characterization of H3N8 equine influenza virus responsible for clinical disease in Algeria in 2011. Transboundary and Emerging Diseases, 62(6): 623-631.
- Livesay, G.J., Oneill, J., Hannant, D., Yadav, M.P. and Mumford, J.A. (1993). The outbreak of Equine Influenza (H3N8) in the united kingdom in 1989. Diagnosis use of an antigen capture ELISA. Veterinary Record, 133(1): 515-519.
- Kinsley, R., Scott, S.D. and Daly, J.M. (2016).Controlling equine influenza: Traditional to next generation serological assays. Veterinary Microbiology, 187: 15-20.
- Mavadiya, S.V., Raval, S.K., Mehta, S.A., Kanani, A.N., Vagh, A.A., Tank, P.H., *et al*. (2012). Epidemiological survey of Equine Influenza in horses in India. Revue Scientifiqueet Technique (International Office of Epizootics), 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.
- Mumford, J.A., Jessett, D., Dunleavy, U., Wood, J., Wood, J., Hannant, D., *et al*. (1994). Antigenicity and immunogenicity of experimental equine influenza ISCOM vaccines, 12(1): 857-863.
- 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.
- Nyaga, P.N., Wiggins, A.D. and Priester, W.A. (1980). Epidemiology of Equine Influenza, risk by age, breed and sex. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 3(1): 67-73.
- Paradis, M.R. (2002). Equine Influenza. In: Large Animal Internal Medicine. Smith, P.B. editor. 3rd ed., USA: Mosby Harcourt, St. Louis, Missouri, pp: 510-511.
- Powell, D.G., Watkins, K.L., Li, P.H. and Shortridge, K.F. (1995). Outbreak of Equine Influenza among horses in Hong Kong during 1992. Veterinary Record, 136(1): 531-536.
- Radostits, O.M., Hinchcliff, K.W. and Constable, P.D. (2007). Veterinary Medicine. Volume2, 10th ed., London: Saunders, pp: 1322-1328.

Seroprevalence and risk factors of equine influenza virus infection in horses of Khuzestan province

Hashemi Mehrjardi, S.H.[1], Pourmahdi Borujeni, M.[2*], Ghadrdan Mashhadi, A.R.[3], Siefiabad Shapori, M.R.[4]

1- Graduate of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
2- Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
3. Professor, Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
4- Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz ,Iran.
*Corresponding author's email: pourmahdim@scu.ac.ir
(Received: 2017/4/10 Accepted: 2018/4/29)

Abstract

Equine influenza is an acute, infectious and highly contagious respiratory disease with worldwide distribution, high morbidity and low mortality. The disease is caused by H7N7 and H3N8 subtypes of genus A of influenza virus in the horse. The most significant clinical signs of equine influenza are fever, coughing and nasal discharge. The aim of the present study was to determine the prevalence and risk factors of Equine influenza in horses of Khuzestan province by ELISA assay. Blood samples were randomly collected from 184 horses from Ahvaz, Ramhormoz, Shush, Shushtar, Mahshahr and Abadan cities. Seroprevalence of influenza virus was 7.07% (95% CI: 3.97-10.77). Multivariate logistic regression showed that age, sex, history of respiratory disease, history of leaving the province, body condition score, type of use, herd size and geographical location justify 45 percent of fluctuations in infection. History of leaving the province was the only factor with a significant effect on infection (p<0.05). Relative frequency of positive cases with and without history of leaving the province was 16% and 92% respectively and odds of infection in horses with history of leaving the province was 20.57 (95% CI: 2.61-161.97) in comparison with horses without history of leaving the province and this factor justifies 21.6% of fluctuations in infection. This survey confirms that influenza virus exists in Khuzestan province and preventive and control measures should be considered by health authorities and horse owners.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: Epidemiology, Influenza, Serology, Horse, Khuzestan.