ارزیابی فراوانی سرمی آلودگی به ویروس تورم سرخرگی در اسب‌های باشگاهی شهرستان ارومیه با استفاده از روش الایزای غیرمستقیم

فریبا رضایی‌بدرش[1] و آرش عراقی‌سوره[2*]

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

چکیده

تورم سرخرگ ویروسی اسبی یک بیماری تنفسی و تولید مثلی اسب‌سانان است که توسط ویروس تورم سرخرگ اسبی (equine arteritis virus) ایجاد می‌شود و علائم آن شامل تب، بی‌اشتهایی، وجود ترشحات آبکی در بینی، پرخونی مخاط بینی، درگیری عقده‌های تحت‌فکی، تورم ملتحمه، ریزش اشک و با فراوانی کمتر، کدورت قرنیه می‌باشد. همچنین ادم غلاف قضیب، بیضه دان، زیرشکم، اندام‌های حرکتی و پلک‌ها به‌دلیل واسکولیت نکروتیک مشاهده می‌شود. در صورت آلودگی مادیان‌های آبستن نیز سقط اتفاق می‌افتد. هدف از انجام مطالعه حاضر ارزیابی فراوانی سرمی آلودگی به ویروس تورم سرخرگی در اسب‌های باشگاهی شهرستان ارومیه با در نظر گرفتن سن، جنس و نژاد بود. بدین منظور نمونه‌های سرمی پس از خون‌گیری از تعداد ۶۴ رأس اسب (۴۹ رأس نر و ۱۵ رأس ماده) در محدوده سنی ۱ تا ۱۹ سال از ۴ نژاد کرد، عرب، ترکمن و آمیخته، به روش الایزای غیرمستقیم جهت ردیابی پادتن‌های اختصاصی ضد ویروس تورم سرخرگ اسبی آزمایش شد. یافته‌ها نشان داد که نمونه‌های مربوط به ۱۸ رأس اسب (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۳۹/۱-۱۷/۱ درصد) واکنش سرمی مثبت نشان دادند. تعداد ۳۵ رأس از اسب‌های بررسی‌شده (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۶۶/۹-۴۲/۵ درصد) منفی و تعداد ۱۱ رأس هم (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۲۶/۴-۸/۰ درصد) از نظر آلودگی به ویروس مذکور، مشکوک تشخیص داده شدند. همچنین مشخص گردید که جنسیت اسب‌ها، ۱/۶۰۱ درصد، نژاد اسب‌ها ۰/۲۴۶ درصد و سن اسب‌ها، ۰/۲۱۳ درصد از تغییرات آلودگی به ویروس تورم سرخرگ اسبی را توجیه می‌کند. نتایج تحقیق حاضر، حاکی از فراوانی سرمی نسبتاً بالای آلودگی به ویروس تورم سرخرگی در اسب‌های باشگاهی شهرستان ارومیه می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: تورم سرخرگ ویروسی، اسب، الایزای غیرمستقیم، ارومیه.

مقدمه

ویروس تورم سرخرگ اسبی (equine arteritis virus; EAV) متعلق به جنس آلفا آرتری ویروس از خانواده آرتری‌وریده و راسته نیدوویرالس می‌باشد (King *et al*., 2018) که به‌واسطه ایجاد بیماری‌های تولیدمثلی و تنفسی، تهدید اقتصادی بزرگی برای صنعت پرورش اسب محسوب می‌شود (Balasuriya *et al*., 2013; Balasuriya and MacLachlan, 2013). ویروس تورم سرخرگ اسبی برای اولین بار در سال ۱۹۵۳ در ایالات متحده جداسازی شد (Bryans *et al*., 1957) و پس از آن از بسیاری از کشورها گزارش گردید، حتی آلودگی با این ویروس از کشورهایی مثل نیوزلند، استرالیا و افریقای جنوبی نیز گزارش شده‌است که قبلا اعتقاد بر عاری بودن آن‌ها از عفونت فوق بود

(Horner, 2004; Hoyloak *et al*., 2008). البته ظاهراً کشورهای ژاپن و ایسلند عاری از آلودگی هستند (Hoyloak *et al*., 2008). همه‌گیری‌های گسترده‌ایی از بیماری تورم سرخرگ ویروسی اسبی در امریکای شمالی و اروپا نیز گزارش شده‌است (Holyoak *et al*., 2008).

ضررهای اقتصادی ویروس تورم سرخرگ اسبی، عمدتاً ناشی از ایجاد سقط جنین در حیوانات آبستن و کاهش درآمد مزارع پرورشی به‌علت انتشار ویروس توسط منی نریان‌های حامل می‌باشد (Balasuriya *et al*., 2018). روش‌های انتقال ویروس تورم سرخرگ اسبی به شکل تنفسی و مقاربتی است (Laabassi *et al*., 2014; Lazic *et al*., 2017) و قطره‌های آلوده ترشحات تنفسی اسب‌های مبتلا به فرم حاد بیماری، منبع مهم انتقال افقی ویروس را تامین می‌کند (Holyoak *et al*., 2008). ماندگاری ویروس فوق در درون جمعیت اسب‌ها به‌واسطه حضور در بدن نریان‌های حامل به‌صورت دوره‌های کوتاه مدت و بلند مدت اتفاق می‌افتد که می‌تواند از چند هفته تا سال‌ها ادامه داشته باشد. ولی غالباً عفونت‌های بلند مدت در مادیان اتفاق نمی‌افتد (Hedges *et al*., 1999l). اعتقاد براین است که انتقال مقاربتی روش عمده در ایجاد آلودگی است. البته تکنیک انتقال جنین نیز می‌تواند باعث انتقال ویروس به مادیان گردد (Broaddus *et al*., 2011a, 2011b). دوره کمون در شکل مقاربتی ۶ تا ۸ روز می‌باشد. درعفونت حاد، تب، افسردگی، بی‌اشتهایی، سرفه، ترشحات آبکی بینی، پرخونی مخاط بینی، درگیری عقده‌های تحت‌فکی، تورم ملتحمه، ریزش اشک و با فراوانی کمتر، کدورت قرنیه مشاهده می‌شود. همچنین ادم غلاف قضیب، بیضه‌دان، زیرشکم، اندام‌های حرکتی و پلک‌ها، به‌دلیل واسکولیت ایجاد می‌شود. در صورت آلودگی مادیان‌های آبستن، سقط و یا زایمان کره‌های ضعیف اتفاق می‌افتد. عفونت کره‌اسب‌های جوان منجر به پنومونی بینابینی شدید می‌شود که شدت آن به سن کره‌اسب در زمان آلودگی مرتبط است (Balasuria *et al*., 2013).

جهت پیشگیری از بیماری ویروسی تورم سرخرگ اسبی در امریکای شمالی، از یک واکسن زنده (modified live virus; MLV) استفاده می‌شود که البته در مادیان‌های آبستن مخصوصاً بالای ۸ ماه منع مصرف دارد. همچنین واکسن مذکور در کره‌اسب‌های جوان زیر ۶ ماه سن نیز استفاده نمی‌شود مگر در خطر مواجهه طبیعی بالا قرار داشته باشند(Timoney and McCollum, 1993; Broaddus *et al*., 2011). در اروپا نیز از یک واکسن کشته استفاده می‌شود (Balasuriya and MacLachlan, 2004).

براساس گزارشات مختلف، آزمایش الایزا به علت داشتن سرعت، حساسیت (۹۱/۹ درصد) و ویژگی (۹۱/۳ درصد) مناسب، برای تشخیص آلودگی اسب‌ها به EAV (با توجه به ابتلای تحت بالینی بسیاری از اسب‌ها)، بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (Gharekhani and Morshedi, 2010; Hassanpour *et al*., 2010; Reed *et al*., 2018; Attari and Araghi-Sooreh, 2020).

با در نظر گرفتن توسعه سریع صنعت پرورش اسب در استان آذربایجان‌غربی و تعداد بالای جمعیت تک‌سمی در این استان و با توجه به مشاهده مواردی از درگیرهای تنفسی و سقط‌های تک‌گیر در اسب‌های منطقه، مطالعه حاضر با هدف تعیین فراوانی سرمی آلودگی به ویروس تورم سرخرگی اسبی و نیز بررسی نقش سن، جنسیت و نژاد در فراوانی موارد مثبت سرمی مربوطه در اسب‌های باشگاهی شهرستان ارومیه انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

- **مشخصات اسب‌ها و نمونه‌گیری**: طی یک مطالعه مقطعی، از بهمن‌ماه ۱۴۰۰ تا فروردین ۱۴۰۱ با مراجعه به باشگاه‌های سوارکاری آتا، ستارخان، پگاسوس و اسب سفید در شهرستان ارومیه در کل از ۶۴ رأس اسب (۴۹ رأس نـر و ۱۵ رأس ماده) به‌طور تصادفی نمونه‌برداری شد. میانگین سن اسب‌ها ۴/۷۲ ± ۱۷/۷۸سال بود و در محدوده سنی یک تا ۱۹ سـال قرار داشتند. جهت بررسی اثر متغییر سن بر فراوانی موارد مثبت سرمی، اسب‌ها به ۴ گروه ۴ سال و پایین‌تر (۲۷ رأس)، ۵ تا ۸ سال (۱۵ رأس)، ۹ تا ۱۲سال (۱۱ رأس) و بالاتر از ۱۲ سال (۱۱ رأس) تقسیم شدند. از اسب‌های مورد مطالعـه تعداد ۳۳ رأس از نژاد کرد، ۱۱ رأس عرب، ۶ رأس ترکمن و ۱۴ رأس آمیخته بودند. درحین نمونه‌گیری فقط یک رأس از اسب‌ها واجد نشانه‌های تنفسی بود و ۶۳ رأس از آن‌ها در معاینات بالینی به‌ظـاهر سـالم بودنـد. نمونـه‌های خـون از ورید وداج اسب‌ها به مقدار ۵ میلی‌لیتر توسط ونوجکـت (شـرکت گرینـر- آلمـان) اخـذ شـد و درون لولـه‌های ژل‌دار (شرکت گرینر- آلمان) و در مجاورت یخ خشک هرچه سریع‌تر به آزمایشگاه ایمونولوژی دانشگاه آزاد اسـلامی واحـد ارومیه منتقل گردید. پس از سانتریفیوژ (شرکت پدیده نوژن پارس- ایران) کردن نمونه‌های خون و جداسـازی سـرم از خون، نمونه‌های سرم درون میکروتیوب‌های استریل (شرکت کالازیست- ایران) تـا زمـان آزمـایش در فریـزر (شـرکت امرسان- ایران) در دمای منفی ۲۰ درجه سلسیوس نگه‌داری گردید.

- **آزمایش الایزا**: آزمایش الایزا به روش غیرمستقیم بـا اسـتفاده از کیـت تجـاری Ingezim Arteritis 2.0, 14.EA2.K1 محصول کشور اسپانیا با شماره ثبت 0606 RD انجام شد. این کیت برای ردیابی پادتن‌هـای اختصاصـی EAV در سـرم اسب طراحی شده‌است. مراحـل آزمـایش هم طبـق دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام گرفـت.

- **قرائت و تفسیر نتایج**: میکروپلیت مربوط به آزمایش الایزای انجام‌گرفته، در طول مـوج ۴۵۰ نـانومتر، توسـط دسـتگاه الایزا ریدر (شرکت بیوتک- آمریکا) قرائت شد. در ادامه جهت تفسیر نتـایج و گـزارش نهـائی، مقـدار جـذب نـوری (OD) به‌دست‌آمده از آنتی‌ژن منفی از مقدار جذب نوری به‌دست‌آمده از آنتی‌ژن مثبت (برای نمونه‌ها و کنترل‌ها) تفریق شد.

بر اساس فرمول فوق، اگر نتیجه تفریق جذب نوری آنتی‌ژن مثبت از جذب نوری آنتی‌ژن منفـی بزرگتـر از ۰/۱۵ باشـد، نمونه مذکور از نظر حضور پادتن‌های ضد EAV مثبت درنظر گرفته می‌شود و اگر نتیجه تفریـق ذکرشـده، کـوچکتر از ۰/۱ باشد، نمونه سرم مورد آزمایش از نظر حضـور پـادتن‌هـای ضـد EAV منفـی درنظـر گرفتـه مـی‌شـود. همچنـین نمونه‌هائی که حاصل تفریق فوق در موردشان، مقادیر مابین این دو عدد باشد، مشکوک تلقی می‌شوند.

- **تحلیل آماری داده‌ها**: تحلیل آماری داده‌هـای حاصـله بـا اسـتفاده از نـرم افـزار IBM SPSS 27 ($SPSS_{27}$، شـرکت شیکاگو، IL، USA) انجام شد. یافته‌های توصیفی متغیرهای مورد مطالعه، شامل شـاخص‌هائی از قبیـل فراونـی مطلـق و نسبی محاسبه و گزارش گردید. همچنین با استفاده از جداول توافقی دوطرفه و آزمون کای‌دو پیرسـون و آزمـون دقیـق فیشر، وابستگی بین نتایج مربوط به متغیرهای دموگرافیک (سن، جـنس، نـژاد و نشـانه‌هـای بـالینی) بررسـی شـد و در صورت وجود تفاوت آماری معنی‌دار بین آن‌ها، اختلاف بین گروه‌ها، توسط آزمون تعقیبی بن‌فرونـی مشـخص گردیـد.

جهت پیش‌بینی احتمال مشاهده موارد سرمی مثبت براساس متغیرهای دموگرافیک پیش‌بین هم از آزمون رگرسیون لجستیک چند متغیره استفاده شد. لازم به ذکر است که در تمام مراحل تجزیه و تحلیل آماری، خطای مجاز برای رد فرضیه صفر (H_0)، ۵ درصد درنظر گرفته‌شد.

یافته‌ها

در کل از ۶۴ نمونه سرم خون اخذ شده از اسب‌های باشگاهی شهرستان ارومیه، تعداد ۱۸ نمونه (۲۸/۱ درصد)، (در فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۳۹/۱-۱۷/۱ درصد)، از نظر وجود پادتن‌های اختصاصی ضد EAV، مثبت و تعداد ۳۵ نمونه (۵۴/۷ درصد)، (در فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۶۶/۹-۴۲/۵ درصد) از این نظر، منفی بودند. همچنین تعداد ۱۱ نمونه (۱۷/۲ درصد)، (در فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۲۶/۴-۸/۰ درصد) هم در محدوده مشکوک قرار داشتند که در در آنالیزهای آماری، به عنوان نمونه منفی در نظر گرفته‌شدند.

طبق نتایج ارائه‌شده در جدول ۱، از ۲۷ نمونه سرم اسب‌های ۴ ساله و پایین‌تر، تعداد ۱۰ نمونه (۳۷/۰ درصد)، از ۱۵ نمونه سرم اسب‌های ۸-۵ ساله، تعداد ۲ نمونه (۱۳/۳ درصد)، از ۱۱ نمونه سرم اسب‌های ۱۲-۹ ساله، تعداد ۴ نمونه (۳۶/۴ درصد) و از ۱۱ نمونه سرم اسب‌های ۹ ساله و بالاتر، تعداد ۲ نمونه (۱۸/۲ درصد)، از نظر وجود پادتن‌های اختصاصی ضد EAV، مثبت بودند. همچنین نتایج آزمون کای دو پیرسون و آزمون دقیق فیشر برای بررسی وابستگی بین ۲ متغیر سن اسب‌های مورد مطالعه و فراوانی آلودگی به EAV، نشان می‌دهد که به لحاظ آماری، وابستگی معنی‌داری بین آن‌ها وجود ندارد (X^2 [3]=۳/۵۹۲ ،p=۰/۳۲۰>۰/۰۵).

جدول ۱- فراوانی آلودگی به ویروس تورم سرخرگی اسبی و ارتباط آن با سن اسب‌ها

محدوده سنی اسب‌ها	وجود پادتن‌های اختصاصی ضد ویروس تورم سرخرگ اسبی		مقدار شاخص کای دو	درجه آزادی	ارزشp
	موارد مثبت	موارد منفی			
۴ ساله و پایین‌تر	۱۰ (۳۷/۰ درصد)	۱۷ (۶۳/۰ درصد)	۳/۵۹۲	۳	۰/۳۲۰
۸-۵ ساله	۲ (۱۳/۳درصد)	۱۳ (۸۶/۷ درصد)			
۱۲-۹ ساله	۴ (۳۶/۴ درصد)	۷ (۶۳/۶ درصد)			
بالاتر از ۱۲ سال	۲ (۱۸/۲ درصد)	۹ (۸۱/۸ درصد)			

همچنین طبق نتایج ارائه‌شده در جدول ۲، از ۴۹ نمونه سرم اسب‌های نر، تعداد ۱۰ نمونه (۲۰/۴ درصد) و از ۱۵ نمونه سرم اسب‌های ماده، تعداد ۸ نمونه (۵۳/۳ درصد)، از نظر وجود پادتن‌های اختصاصی ضد EAV، مثبت بودند. نتایج آزمون کای دو پیرسون هم حاکی است که در اسب‌های ماده، شیوع سرمی آلودگی به EAV، به‌طورمعنی‌داری بیشتر از اسب‌های نر بوده و به لحاظ آماری نیز بین جنسیت و فراوانی آلودگی به EAV، وابستگی معنی‌داری وجود دارد (X^2 [2]=۶/۱۵۹ ،p=۰/۰۱۳<۰/۰۵).

جدول ۲- فراوانی آلودگی به ویروس تورم سرخرگی اسبی و ارتباط آن با جنسیت اسب‌ها

جنسیت اسب‌ها	وجود پادتن‌های اختصاصی ضد ویروس تورم سرخرگ اسبی		مقدار شاخص کای دو	درجه آزادی	ارزش p
	موارد مثبت	موارد منفی			
نر	۱۰ [a] (۲۰/۴ درصد)	۳۹ (۷۹/۶ درصد)	۶/۱۵۹	۱	۰/۰۱۳
ماده	۸ [b] (۵۳/۳ درصد)	۷ (۴۶/۷ درصد)			

a,b: حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار در آزمون تعقیبی بنفرونی می‌باشد (p<۰/۰۵).

از طرف دیگر، طبق نتایج ارائه شده در جدول ۳، از ۳۳ نمونه سرم اخذ شده از اسب‌های کرد، تعداد ۱۱ نمونه (۳۳/۳ درصد) و از ۱۱ نمونه سرم اسب‌های عرب، تعداد ۱ نمونه (۹/۱ درصد) و از ۶ نمونه سرم اسب‌های ترکمن، تعداد ۳ نمونه (۵۰/۰ درصد) و از ۱۴ نمونه سرم اسب‌های آمیخته، تعداد ۳ نمونه (۲۱/۴ درصد)، از نظر وجود پادتن‌های اختصاصی ضد EAV، مثبت بودند. داده‌های خروجی آزمون کای دو پیرسون هم نشان می‌دهد که وابستگی معنی‌داری بین نژاد اسب‌ها و فراوانی موارد مثبت سرمی آلودگی به EAV وجود نداشت (X^2([3]=۴/۱۴۵ ،p=۰/۲۵۹>۰/۰۵).

جدول ۳- فراوانی آلودگی به ویروس تورم سرخرگ اسبی و ارتباط آن با نژاد اسب‌ها

نژاد اسب‌ها	وجود پادتن‌های اختصاصی ضد ویروس تورم سرخرگ اسبی		مقدار شاخص کای دو	درجه آزادی	ارزش p
	مثبت	منفی			
کرد	۱۱ [b] (۳۳/۳ درصد)	۲۲ (۶۶/۷ درصد)	۴/۱۴۵	۳	۰/۲۵۹
عرب	۱ [a] (۹/۱ درصد)	۱۰ (۹۰/۹ درصد)			
ترکمن	۳ [b] (۵۰/۰ درصد)	۳ (۵۰/۰ درصد)			
آمیخته	۳ [a] (۲۱/۴ درصد)	۱۱ (۷۸/۶ درصد)			

a,b: حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار در آزمون تعقیبی بنفرونی می‌باشد (p<۰/۰۵).

نهایتاً مشخص گردید که مدل رگرسیون لجستیک چندمتغیره در بررسی تاثیر سن، جنس و نژاد اسب‌های مورد مطالعه بر فراوانی موارد مثبت سرمی آلودگی به EAV، به لحاظ آماری معنی‌دار نیست (X^2([4]=۷/۲۴۷ ،p=۰/۰۶۴>۰/۰۵) و مدل از برازش لازم برخوردار نبود. همچنین مدل (Nagelkerke R^2)، ۱۵/۴ درصد از واریانس ثبت‌شده در مورد بیماری تورم سرخرگی ویروسی اسبی در تحقیق حاضر را توضیح داده و ۷۳/۴ درصد از موارد را بطور صحیح طبقه‌بندی کرد. بر این اساس مشخص گردید که از میان ۳ متغیر پیش‌بینی‌کننده سن، جنس و نژاد اسب‌ها، تنها تاثیر جنس معنی‌دار بوده (p=۰/۰۱۵<۰/۰۵) و بقیه متغیرهای پیش‌بین، تاثیر معنی‌داری نداشتند. رگرسیون لجستیک چند متغیره نشان داد که شانس آلودگی به EAV با توجه به سن برحسب سال، ۱/۲۳۷ (در فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۰/۷۲۴-۲/۱۱۴) می‌باشد (p=۰/۹۸۰>۰/۰۵) و براین اساس، سن اسب‌های باشگاهی شهرستان ارومیه، ۰/۲۱۳ درصد از تغییرات آلودگی به EAV را توجیه می‌کند. به بیان دیگر با افزایش ۴ سال سن اسب‌ها، احتمال آلودگی به EAV، حدود

۱/۲۳ برابر کاهش می‌یابد. همچنین رگرسیون لجستیک نشان داد که شانس آلودگی اسب‌های ماده، ۴/۹۵۷ برابر (در فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱۸/۰۰۹–۱/۳۶۵) اسب‌های نر می‌باشد (p=۰/۰۱۵<۰/۰۵) و جنسیت اسب‌ها هم ۱/۶۰۱ درصد از تغییرات آلودگی به EAV را توجیه می‌کند. از طرف دیگر، نتایج رگرسیون لجستیک حاکی است که نژاد اسب‌ها نیز ۰/۲۴۶ درصد از تغییرات آلودگی به EAV را توجیه می‌کند و شانس آلودگی اسب‌های نژاد کرد، ۱/۸۶۳ برابر (در فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۹/۳۷۹–۰/۳۷۰) اسب‌های عرب (p=۰/۴۵۱>۰/۰۵) می‌باشد. همچنین شانس آلودگی اسب‌های ترکمن ۱/۹۶ برابر (در فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۲۳/۰۲۷–۰/۱۴۴) اسب‌های عرب (p=۰/۶۱۲>۰/۰۵) بوده و شانس آلودگی اسب‌های ترکمن هم ۱/۹۱۴ برابر (در فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱۷/۳۹۱–۰/۲۱۱) اسب‌های آمیخته می‌باشد (p=۰/۵۶۴>۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر ۲۸/۱ درصد از ۶۴ رأس اسب باشگاهی تحت مطالعه به روش الایزا در شهرستان ارومیه، بر اساس حضور پادتن‌های ضد ویروس تورم سرخرگی اسبی، از نظر سرمی آلوده به EAV تشخیص داده شدند. در این راستا در تحقیقی که باستانی و همکاران در سال ۱۳۹۸ روی ۲۱ رأس اسب از استان آذربایجان‌غربی انجام داده بودند، میزان آلودگی به EAV را ۲۳/۸ درصد گزارش کرده‌اند (Bastani *et al*., 2020). متاسفانه دراین تحقیق اطلاعاتی از میزان آلودگی شهرستان ارومیه وجود ندارد ولی با توجه به نتایج تحقیق مذکور و یافته‌های تحقیق حاضر، به‌نظر می‌رسد که میزان آلودگی به EAV در جمعیت اسب‌های استان در حال افزایش است. از طرف دیگر در مطالعه فوق که علاوه بر استان آذربایجان‌غربی روی اسب‌های ۳ استان تهران، گلستان و خوزستان نیز به‌طور همزمان تحقیق مشابه انجام گرفته، گزارش شده که میزان آلودگی به EAV در استان آذربایجان‌غربی بسیار بیشتر از مقدار آن در ۳ استان مذکور می‌باشد، به‌طوری‌که فراوانی آلودگی به EAV در مورد اسب‌های استان تهران ۲/۷ درصد، اسب‌های استان گلستان ۴/۳ درصد و اسب‌های استان خوزستان ۶/۷ درصد بوده‌است (Bastani *et al*., 2020). همچنین با توجه به نتایج دو مطالعه دیگر موجود در ایران هم که میزان آلودگی به EAV را ۴/۴۶ درصد در استان تهران (Nejat *et al*., 2015) و ۰/۷۶ درصد در استان البرز گزارش کرده‌اند (Mirsaeedi Farahani *et al*., 2014)، به‌نظر می‌رسد که برخلاف استان آذربایجان‌غربی، در بیشتر استان‌های ایران، میزان آلودگی با EAV از فراوانی بالایی برخوردار نیست. احتمالاً بالا بودن میزان آلودگی مذکور در استان آذربایجان‌غربی نسبت به دیگر استان‌ها می‌تواند مربوط به عدم وجود نظارت به ورود اسب از کشور ترکیه با میزان آلودگی بالا به EAV باشد، چرا که در مطالعات مختلف انجام شده در مورد آلودگی جمعیت اسبی مناطق مختلف ترکیه به EAV، میزان آلودگی از کمینه ۸/۴ درصد تا بیشینه ۲۳/۴ درصد گزارش شده‌است (Bulut *et al*., 2012; Marenzoni *et al*., 2013; Ince and Sevik, 2022).

از طرف دیگر به نظر می‌رسد که اسب‌های دیگر کشور همسایه با استان آذربایجان‌غربی یعنی کشور عراق با میزان آلودگی گزارش‌شده ۱/۶۱ درصد، نقش اساسی در انتقال ویروس تورم سرخرگی اسبی نداشته باشد (Hussein *et al*., 2016). همچنین با توجه به وجود گزارشات متفاوت از میزان آلودگی به EAV در کشورهای مختلف دنیا، نظیر ۱/۹۹

درصد از برزیل (Carvalho *et al*., 2013)، ۲/۳ درصد از انگلستان (Glaser *et al*.,1996)، ۷/۴۶ درصد از الجزایر (Laabassi *et al*., 2014)، ۸/۷۵ درصد از تونس (Gram *et al*., 1994)، ۱۱/۳ درصد ازسویس (De Boer *et al*, 1979)، ۱۴ درصد از هلند (Zhang *et al*., 2007)، ۱۶/۸ درصد از اسپانیا (Cruz *et al*., 2015)، ۱۸/۶ درصد از ایالات متحده (Hullinger *et al*., 2021) و ۲۰ درصد از آلمان (Eichhorn *et al*., 1995)، احتمالاً تفاوت‌های موجود در میزان فراوانی آلودگی به EAV می‌تواند ناشی از نوع نمونه (جنس، سن و نژاد)، تعداد نمونه، روش نمونه‌برداری، نوع آزمایش استفاده‌شده، ناحیه جغرافیایی، شرایط آب و هوایی و وقوع همه‌گیری‌های متفاوت باشد(Balasuriya and MacLachlan, 2013).

از طرف دیگر، در تحقیق حاضر میزان آلودگی به ویروس تورم سرخرگی اسبی مابین گروه‌های سنی مختلف اسب‌ها، تفاوت آماری معنی‌داری نشان نداد (جدول ۱)، ولی آزمون رگرسیون مشخص کرد که با افزایش هر ۴ سال در سن اسب‌ها، میزان آلودگی با EAV حدود ۱/۲۳ برابر کاهش می‌یابد. در مطالعه نجات و همکاران نیز گزارش شده که بیشترین میزان آلودگی به EAV در اسب‌های زیر یک‌سال و سپس در گروه یک تا دو ساله‌ها وجود دارد و این فراوانی به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه سنی بالای ۳ سال می‌باشد (Nejat *et al*., 2015). همچنین در این راستا مطالعات قبلی نشان داده که تلفات در کره اسب‌های زیر یک‌سال از عوارض عمده بیماری تورم سرخرگ ویروسی اسبی است (Horner, 2004; Rola *et al*., 2011).

همچنین در مطالعه حاضر نتایج آزمون رگرسیون نشان داد که شانس آلودگی اسب‌های ماده، ۴/۹۵۷ برابر اسب‌های نر بوده و به لحاظ آماری بین جنسیت و فراوانی آلودگی به EAV وابستگی معنی‌داری وجود دارد (p=۰/۰۱۳<۰/۰۵) (جدول ۲) . کانستبل و همکاران هم در تحقیقی در سال ۲۰۱۷، به آلودگی بیشتر مادیان‌ها با ویروسEAV براساس بررسی سرولوژیک اشاره کرده‌اند (Constable *et al*., 2017). در تحقیق انجام‌شده توسط نجات و همکاران هم فراوانی غیرمعنی‌داری در آلودگی بیشتر مادیان‌ها نسبت به نریان‌ها گزارش شده‌است (Nejat *et al*., 2015). همچنین هر چند در مطالعه باستانی و همکاران میزان آلودگی نرها بیشتر گزارش شده، ولی اختلاف مذکور از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده‌است (Bastani *et al*., 2020). عقیده بر این است که این امر می‌تواند ناشی از شانس آلودگی بیشتر مادیان‌ها از هر دو راه انتقال عمودی و افقی (Bulut *et al*., 2012) و یا حضور بیشتر آن‌ها در مسابقات و مراکز تولید مثل جهت جفت‌گیری باشد (Bastani *et al*., 2020).

همچنین در طی تحقیق حاضر، وابستگی معنی‌داری بین نژاد اسب‌ها و فراوانی موارد مثبت سرمی آلودگی به EAV مشاهده نشد، ولی در کل میزان آلودگی در نژادهای کرد و ترکمن بیشتر از عرب و آمیخته‌ها بود (جدول ۳). در این ارتباط لازم به ذکر است که تاکنون حساسیت نژادی در ابتلای اسب‌ها به ویروس تورم سرخرگی اسبی تنها در یک مطالعه گزارش شده‌است به‌طوری‌که نجات و همکاران نشان داده‌اند فراوانی آلودگی بهEAV در نژاد استانداردبرد به‌طور معنی‌داری بیشتر از نژاد تروبرد می‌باشد (Nejat *et al*., 2015). در مطالعه باستانی و همکاران ارتباط آماری معنی‌داری بین نژاد و آلودگی با ویروسEAV ثبت نگردیده که البته علت آن را ناشی از پراکندگی ناهمگون تعداد نمونه‌های اخذ شده از نژادهای مختلف کشور دانسته‌اند (Bastani *et al*., 2020).

با توجه به عدم واکسیناسیون اسب‌های تحت مطالعه، می‌توان یافته‌های مشاهده‌شده در مطالعه حاضر را حاصل مواجهه طبیعی نسبتاً بالا با ویروس تورم سرخرگ اسبی در جمعیت اسب‌های باشگاهی شهرستان ارومیه دانست. نتایج به‌دست‌آمده، اهمیت توجه به کنترل و پیشگیری آلودگی با این ویروس و اتخاذ روش‌های مدیریتی صحیح از جمله قرنطینه مرزهای ایران با ترکیه و استفاده از واکسیناسیون جهت کاهش خسارات اقتصادی صنعت پرورش اسب ناشی از احتمال وقوع همه‌گیری بیماری تورم سرخرگ ویروسی اسبی را نشان می‌دهد. از طرف دیگر آگاهی‌دادن به پروش‌دهندگان اسب در خصوص حضور و چرخش ویروس در جمعیت اسبی منطقه و شناسایی نریان‌های حامل، خطر انتقال ویروس به مادیان‌های حساس را خواهد کاست. همچنین توصیه می‌شود جهت مشخص شدن چهره واقعی اپیدمیولوژی بیماری تورم سرخرگ ویروسی اسبی، همزمان با انجام آزمون‌های سرولوژیک، از روش‌های تشخیصی ردیابی‌کننده پادگنی و نوین مولکولی، در طیف وسیعی از جمعیت اسب‌های استان آذربایجان‌غربی استفاده شود.

سپاسگزاری

نویسندگان از مسئولین محترم آزمایشگاه ایمونولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه به‌خصوص جناب آقای مهندس جعفری و نیز صاحبان شریف باشگاه‌های سوارکاری شهرستان ارومیه بخاطر همکاری در اجرای تحقیق حاضر قدردانی می‌نماید. مقاله حاضر مستخرج از پایان‌نامه دکتری عمومی دانشگاه آزاد اسلامی ارومیه (کد پایان‌نامه: ۱۰۳۸۲۹۲۷۵۴۲۲۲۲۹۴۶۰۰۴۱۶۲۴۸۸۰۲۰) می‌باشد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافع وجود ندارد.

منابع

- Attari, A. and Araghi-Sooreh, A. (2022). Serological survey of influenza a virus infection in horses of some districts of Mahabad city by ELISA method. Veterinary Clinical Pathology,15(4): 357-367.[In Persian]
- Balasuriya, U. and MacLachlan, N.J. (2013) Equine viral arteritis. In: Sellon, D.C. and Long, M.T., (Eds.) Equine Infectious Diseases, 2nd ed. StLouis: W.B. Saunders. pp: 169-181.
- Balasuriya, U.B.R., Carossino, M. and Timoney, P.J. (2018). Equine viral arteritis: A respiratory and reproductive disease of significant economic importance to the equine industry. Equine Veterinary Education, 30(9):497-512.
- Balasuriya, U.B., Go, Y.Y. and MacLachlan, N.J. (2013) Equine arteritis virus. Veterinary Microbiology, 167(1-2): 93-122.
- Bastani, B., Raoofi, A., Madadgar, O. and Akbarein, H. (2020). A Survey of Equine Viral Arteritis Virus Infection by ELISA in Horses with History or Clinical Signs of Disease in Four Provinces of Iran. Journal of Veterinary Research, 75(2): 200-207.
- Broaddus, C.C., Balasuriya, U.B.R., Timoney, P.J., White, J.L.R., Makloski, C., Torrisi, K., *et al*. (2011). Infection of embryos following insemination of donor mares with equine arteritis virus infective semen. Theriogenology, 76(1): 47-60.

- Broaddus, C.C., Balasuriya, U.B., White, J.L., Timoney, P.J., Funk, R.A. and Holyoak, G.R. (2011). Evaluation of the safety of vaccinating mares against equine viral arteritis during mid or late gestation or during the immediate postpartum period. Journal of the American Veterinary Medical Association, 238(6): 741-750.
- Bulut, O., Yavru, S., Yapici, O., Kale, M. and Avci, O. (2012). The serological investigation of equine viral arteritis infection in Central Anatolia of Turkey. Journal of Animal and Veterinary Advances, 11(7): 924-926.
- Carvalho, P.R., Cassaro, E.V.M., Cunha, E.S. and Lara, M.C.C.S.H. (2013). Seroepidemiology surveys of Equine arteritis virus in equids population of center-west region of São Paulo state, Brazil. Global Veterinaria, 10(2): 223-232.
- Constable, P.D., Hinchcliff, K.W., Done, S.H. and Grunberg, W. (2017). Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. 11th ed., St. Louis, pp: 2087-2091.
- Cruz, F., Fores, P., Mughini-Gras, L., Ireland, J., Moreno, M.A. and Newton, R. (2016). Seroprevalence and factors associated with seropositivity to equine arteritis virus in Spanish Purebred horses in Spain. Equine Veterinary Journal, 48(5): 573-577.
- De Boer, G.F., Osterhaus, A.D.M.E., Van Oirschot, J.T. and Wemmenhove, R. (1979). Prevalence of antibodies to equine viruses in the Netherlands. Veterinary Quarterly, 1(2): 65-74.
- Bryans, J.T., Crowe, M.E., Doll, E.R. and McCollum, W.H. (1957). Isolation of a filterable agent causing arteritis of horses and abortion by mares: Its differentiations from equine abortion (influenza) virus. Cornell Veterinarian, 47(1): 3-42.
- Eichhorn, W., Heilmann, M. and Kaaden, O.R. (1995). Equine viral arteritis with abortions: serological and virological evidence in Germany. Journal of Veterinary Medicine, Series B, 42(1-10): 573-576.
- Ghram, A., Chabchoub, A., Turki, I., Boussetta, M., Amor, I. and Ghorbel, A. (1994). Rhinopneumonia and equine viral arteritis: seroepidemiological study in the northeast of Tunisia. Archives de L'institut Pasteur de Tunis, 71(1-2): 5-12.
- Glaser, A.L., De Vries, A.A.F., Rottier, P.J.M., Horzinek, M.C. and Colenbrander, B. (1996). Equine arteritis virus: a review of clinical features and management aspects. Veterinary Quarterly, 18(3): 95-99.
- Hassanpour, A., Rezaei Saber, A.P. and Mosakhani, F. (2010). Serologic investigation of the prevalence of Equine infectious anemia virus in Tabriz area. Veterinary Clinical Pathology, 4(2): 837-841. [In Persian]
- Hedges, J.F., Balasuriya, U.B., Timoney, P.J., McCollum, W.H. and MacLachlan, N.J. (1999). Genetic divergence with emergence of novel phenotypic variants of equine arteritis virus during persistent infection of stallions. Journal of Virology, 73(5): 3672-3681.
- Holyoak, G.R., Balasuriya, U.B.R., Broaddus, C.C. and Timoney, P.J. (2008). Equine viral arteritis: Current status and prevention. Theriogenology, 70(3): 403-414.
- Horner, G.W. (2004). Equine viral arteritis control scheme: a brief review with emphasis on laboratory aspects of the scheme in New Zealand. New Zealand Veterinary Journal, 52(2): 82-84.
- Hullinger, P.J., Gardner, I.A., Hietala, S.K., Ferraro, G.L. and MacLachlan, N.J. (2001). Seroprevalence of antibodies against equine arteritis virus in horses residing in the United States and imported horses. Journal of the American Veterinary Medical Association, 219(7): 946-949.
- Hussein, Z., Abdulrasool, M. and Hatem, A. (2016). Seropositivity of equine viral arteritis in horses in Iraqi equestrian club. Kufa Journal of Veterinary Medical Sciences, 25(6): 72-79.
- King, A.M., Lefkowitz, E.J., Mushegian, A.R., Adams, M.J., Dutilh, B.E., Gorbalenya, A.E., *et al.* (2018). Changes to taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses. Archives of Virology, 163(9): 2601-2631.

- Laabassi, F., Amelot, G., Laugier, C., Zientara, S., Nasri, A.M. and Hans, A. (2014). Prevalence of equine viral arteritis in Algeria. Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics), 33(3): 967-974.
- Lazić, S., Lupulović, D., Gaudaire, D., Petrovic, T., Lazić, G. and Hans, A. (2017). Serological evidence of equine arteritis virus infection and phylogenetic analysis of viral isolates in semen of stallions from Serbia. BMC Veterinary Research, 13(1): 1-8.
- Marenzoni, M.L., Cuteri, V., Parri, F.D., Danzetta, M. L., Yilmaz, Z., Yaramis, C.P., *et al*. (2013). A pilot study on the epidemiological status of equine infectious anaemia, equine viral arteritis, glanders, and dourine in Turkey. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 37(1): 76-80.
- Mirsaeedi Farahani, S.M., Badiei, A., Shaghayagh, A., Sadri, R., Loghmani, M., Hosamy, P., *et al.* (2014). Seroepidemiologic survey on West Nile Virus, Equine Infectious Anemia Virus, Equine Arteritis Virus and Influenza A Virus in the stables of Tehran and Alborz province. Journal of Veterinary Clinical Research, 5(3): 135-144.
- Nejat, S., Momtaz, H., Yadegari, M., Nejat, S., Safarpour Dehkordi, F. and Khamesipour, F. (2015). Seasonal, geographical, age and breed distributions of equine viral arteritis in Iran. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 21(1): 111-116.
- Reed, S.M., Bayly, W.M. and Sellon, D.C. (2018). Disorders of the endocrine system. Equine Internal Medicine. 4th ed., Saunders, pp: 1029-1138.
- Rola, J., Larska, M., Rola, J.G., Belák, S. and Autorino, G.L. (2011). Epizotiology and phylogeny of equine arteritis virus in hucul horses. Veterinary Microbiology, 148(2-4): 402-407.
- Timoney, P.J. and McCollum, W.H. (1993). Equine viral arteritis. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice, 9(2): 295-309.
- Zhang, J., Miszczak, F., Pronost, S., Fortier, C., Balasuriya, U.B., Zientara, S., *et al.* (2007). Genetic variation and phylogenetic analysis of 22 French isolates of equine arteritis virus. Archives of Virology, 152(11): 1977-1994.

ارزیابی فراوانی سرمی آلودگی به ویروس تورم سرخرگی در اسب‌های باشگاهی شهرستان ارومیه با استفاده از روش الایزای غیرمستقیم

Assessment of seroprevalence of equine arteritis virus infection in club horses of Urmia using indirect ELISA

Rezaie Badrash, F.[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, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.
*Corresponding author's email: a.araghi@iaurmia.ac.ir

Abstract

Equine viral arteritis is a respiratory and reproductive disease of equides that causes by equine arteritis virus. Clinical signs include a fever, anorexia, serous nasal discharge, congestion of the nasal mucosa, intermandibular lymphadenopathy, conjunctivitis, lacrimation, and less frequently, keratitis. Edema of the sheath, scrotum, ventral midline, eyelids and limbs occurs as well as because of necrotic vasculitis. Abortion also may occur if pregnant mares get infected. This study was aimed to determine the seroprevalence rate of equine viral arteritis in club horses of Urmia in relation to age, sex and breed. Sera from 64 horses (49 males and 15 females), aged 1-19 years, of four breeds-kurd, Arab, Turkman and crossbred were tested by indirect enzyme linked immunosrobent assay (iELISA) to detect specific antibodies against equine arteritis virus. Findings showed that 28.1% (95% CI: 17.1-39.1%) of samples were seropositive, 54.7% (95% CI: 42.5-66.9%) were negative and 17.2% (95% CI: 8.0-26.4%) were found to be doubtful. Also proved that sex, breed and age of horses explained 1.601, 0.246 and 0.213% of infection's fluctuations, respectively. The results of present study indicate relatively high seroprevalence of equine arteritis virus infection in club horses of Urmia.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: Equine viral arteritis, Horse, Indirect ELISA, Urmia.