نشریه علوم درمانگاهی دامپزشکی ایران؛ ۱۴۰۱؛ ۱۶(۲):۳۵-۴۶.
http://doi.org/10.22034/ijvcs.2022.13473.0

بررسی میزان آلودگی به هرپس‌ویروس اسبی نوع ۴ در اسبان استان خوزستان

علیرضا قدردان مشهدی*[۱]؛ هادی هادی‌نسب[۲]؛ مسعودرضا صیفی‌آباد شاپوری[۳]؛ مهدی پورمهدی بروجنی[۴]

۱. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز- ایران.
۲. دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز- ایران.
۳. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز- ایران.
۴. گروه بهداشت موادغذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز- ایران.

دریافت: ۲۸ اردیبهشت ۱۴۰۱ **پذیرش:** ۱۶ شهریور ۱۴۰۱

چکیده

هرپس‌ویروس اسبی نوع ۴، یکی از مهم‌ترین هرپس‌ویروس‌های اسبی با توزیع جهانی است که عمدتاً باعث بیماری تنفسی در این دام می‌شود. در پژوهش حاضر تلاش شده است که میزان حضور این ویروس در بین جمعیت اسبان استان خوزستان تعیین گردد. از ۱۵۱ رأس اسب نگه‌داری شده در تعدادی از باشگاه‌های موجود در شهرهای مختلف استان خوزستان خون‌گیری به‌عمل آمد، نمونه‌ها با آزمایش PCR ارزیابی شدند. داده‌های جمع‌آوری شده با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و با بهره بردن از آزمون مربع کای، رگرسیون لاجستیک، آزمون مان ویتنی و آزمون دقیق فیشر به‌طور توصیفی و تحلیلی بررسی شدند. α =۰/۰۵ به‌منظور قضاوت آماری مد نظر قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که میزان کلی آلودگی به هرپس‌ویروس اسبی نوع ۴ در اسبان این مطالعه بدون توجه به فاکتورهای میزبانی و محیطی، ۱۶/۵۶ درصد بوده است. بر اساس نتایج آزمون‌های آماری انجام شده، سن، جنسیت، وضعیت آبستنی، سابقه بیماری تنفسی و سابقه جابجایی بین شهرهای استان خوزستان یا خروج از این استان تاثیر معنی‌داری بر میزان آلودگی نداشته است (P >۰/۰۵)، در عین حال میزان آلودگی اسبان شهرستان اهواز بیشتر از سایر شهرها (شوشتر، شوش، رامهرمز و ماهشهر) بوده، امّا این تفاوت تنها با رامهرمز (کمترین میزان آلودگی) معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). نتایج بررسی حاضر نشان می‌دهد که اگرچه میزان موارد مثبت به ثبت رسیده در این مطالعه، در مقایسه باپژوهش‌های پیشین به‌عمل آمده با بهره بردن از روش الایزا، به‌مراتب کمتر است، امّا ویروس در سطح اسبان استان حضور دارد.

واژه‌های کلیدی: هرپس اسبی نوع ۴، اسب، خوزستان، PCR

مقدمه

در بین ویروس‌های مختلف درگیر کننده اسب، هرپس‌ویروس‌ها جایگاه ویژه‌ای دارند. این گروه از ویروس‌ها به‌واسطه‌ی واگیری بالا و همچنین ایجاد سندرم‌های مختلف بالینی می‌توانند سلامت جمعیت‌های اسب را در یک منطقه با تهدیدهای جدی مواجه سازند (۲۳). هرپس‌ویروس‌های اسبی مانند دیگر هرپس‌ویروس‌هایی که حیوانات و انسان‌ها را آلوده می‌کنند، دارای چرخه زندگی پیچیده‌ای هستند به‌این صورت که در کنار بهره بردن از میزبان، حضوری دایمی در بدن آن‌ها دارند. این ویروس‌ها در سیکل زندگی خود، مادامی که از سیستم ایمنی میزبان فرار می‌کنند، تعداد زیادی از سلول‌های بافت‌های مختلف را آلوده می‌سازند. دوره نهفتگی طولانی ویروس در اسب‌های بهبود یافته از بیماری و بدون علایم، رمز بقای ویروس به‌حساب می‌آید. این قابلیت نه تنها ساز و کاری برای آلوده کردن اسبان یک گلّه، بلکه شیوه‌ای برای آلوده کردن اسب‌های گلّه‌های دیگر، به‌دنبال جابجایی اسب حامل خواهد بود؛ چرا که به-

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: kianeg2000@yahoo.com

دنبال فعال شدن دوباره ویروس در بدن میزبان و دفع آن، اسب‌های جدید و حساس و در تماس با این دام، به ویروس آلوده می‌گردند (۳ و ۱۷).

با توجه به آن‌که هرپس‌ویروس‌های اسبی به صورت مستقیم باعث اختلالات بالینی مختلفی از قبیل بیماری ریوی، سقط (۳ و ۹) و فلجی (۶ و ۱۶) در اسبان می‌شوند، همچنین به‌دلیل محدودیت‌هایی که در جابجایی و پرورش اسب و مسابقات مرتبط با آن به وجود می‌آورند، با تأثیرات مهمی بر اقتصاد و صنعت پرورش اسب همراه هستند (۶).

این ویروس‌ها به گروه ویروس‌های DNA دار و خانواده هرپس‌ویریده تعلق دارند و بر اساس ژنوم، دامنه میزبانی و سیتوپاتولوژی به سه زیر خانواده آلفا، بتا و گاما تقسیم می‌شوند (۳). قابل توجه آن‌که هر یک از آلفا هرپس‌ویرینه‌ها دارای میزبان‌های محدود است و به‌طور ویژه یک گونه‌ی خاص را هدف قرار می‌دهند (۲۰).

هرپس‌ویروس اسبی نوع ۴ یک آلفا هرپس‌ویروسی متعلق به تحت خانواده آلفا هرپس‌ویرینه است که به جنس واریسلوویروس تعلق دارد (۳). هرپس‌ویروس اسبی نوع ۱ و ۴ دارای شباهت‌های بسیار زیادی هستند، ولی از نظر ژنتیکی و آنتی‌ژنتیکی به‌وسیله پروفایل بیماری متفاوتی که ایجاد می‌کنند، از هم مجزا می‌شوند (۱۳).

EHV-4، یکی از مهم‌ترین هرپس‌ویروس‌های اسبی با توزیع جهانی است که عمدتاً باعث بیماری تنفسی در این دام می‌گردد (۳)، همچنین موارد نادری از سقط، سپتی‌سمی نوزادان و میلوآنسفالوپاتی اسبان بالغ به‌دنبال درگیری با آن به‌ثبت رسیده است (۲۲). علی‌رغم آن‌که تظاهرات بالینی آلودگی به این ویروس، کمتر به تلفات منجر می‌شود، امّا وجود همه‌گیری‌های بیماری و صرف هزینه‌های تشخیصی و درمانی ناشی از آن، می‌تواند خسارات اقتصادی عمده‌ای را به صنعت پرورش اسب وارد سازد. لازم به یادآوری است که هیچ درمان ویژه‌ای برای دام‌های درگیر با این ویروس وجود ندارد و ایمنی ناشی از واکسیناسیون یا ابتلا به بیماری، کوتاه مدت خواهد بود (۶).

یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های هرپس‌ویروس‌ها، از جمله EHV-4، آن است که می‌توانند به صورت مخفی در بدن میزبان استقرار یافته و در زمان وجود شرایط مساعد (استرس) فعال شده و در نتیجه بیماری بالینی را سبب گردند (۳)، حالتی که با دفع ویروس از طریق ترشحات بینی همراه است و می‌تواند آلودگی سایر اسبان را به‌همراه داشته باشد (۱۵). ویژگی یاد شده باعث می‌گردد که حذف این عامل از جمعیت اسب‌ها- اگر غیرممکن به‌حساب نیاید- دشوار باشد (۱۴).

با عنایت به نکات پیش گفته و اهمیت غیرقابل انکار EHV-4، در پژوهش حاضر تلاش گردید که میزان حضور ویروس در بین جمعیت اسبان استان خوزستان تعیین گردد. قابل توجه آن‌که اختلالات تنفسی (اصلی‌ترین نمود بالینی آلودگی به EHV-4) از جمله رایج‌ترین بیماری‌هایی هستند که دامپزشکان منطقه به طور معمول با آن مواجه بهستند و ظن حضور این ویروس در بروز آن، اغلب مطرح می‌گردد. برای شناسایی آلودگی به EHV-4 از روش‌های مختلف سرولوژیک، کشت یا PCR استفاده می‌شود (۱۲). درپژوهش حاضر از آزمایش بسیار حساس PCR استفاده گردید، تا با شناسایی ژنوم ویروس بتوان با دقت بیشتری در باره حضور آن در دام‌های بررسی شده، اظهار نظر کرد.

مواد و روش کار

در این مطالعه، ۱۵۱ راس اسب موجود در تعدادی از باشگاه‌های پرورش اسب شهرهای مختلف استان خوزستان، بررسی شدند (جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات اسب‌های نمونه‌گیری شده در شهرستان‌های مختلف استان خوزستان

			سن				جنس		وضعیت آبستنی		سابقه بیماری تنفسی		سابقه جابجایی		
	تعداد اسب‌داری‌ها	تعداد اسب‌ها	کوچکتر مساوی ۶ ماه	۶ ماه تا کمتر از ۳ سال	۳ سال تا کمتر از ۱۰ سال	بزرگتر مساوی ۱۰ سال	نریان	مادیان	بالغ آبستن	بالغ غیرآبستن	دارد	ندارد	درون استانی	خارج استان	درون استانی + خارج استان
اهواز	۴	۴۲	۶	۱۶	۱۶	۴	۱۴	۲۸	۸	۸	۵	۳۷	۱۶	۱۲	۵
شوشتر	۷	۳۰	۱	۱۰	۱۴	۵	۱۰	۲۰	۱۳	۱	۱۵	۱۵	۱۲	۲	۲
شوش	۶	۳۰	۰	۹	۱۵	۶	۱۱	۱۹	۹	۷	۱۹	۱۱	۷	۷	۳
رامهرمز	۴	۲۹	۰	۱۴	۹	۶	۷	۲۲	۸	۵	۶	۲۳	۸	۳	۱
ماهشهر	۴	۲۰	۰	۷	۱۰	۳	۱۲	۸	۵	۳	۰	۲۰	۷	۵	۱
جمع کل	۲۵	۱۵۱	۷	۵۶	۶۴	۲۴	۵۴	۹۷	۴۳	۲۴	۴۵	۱۰۶	۵۰	۲۹	۱۲

در زمان مراجعه به هر اسب‌داری، پس از اخذ و ثبت اطلاعات مورد نیاز در پرسش‌نامه مربوط، خون‌گیری از ورید وداج با سرنگ صورت می‌گرفت. خون‌های به‌دست آمده به لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد سیترات منتقل می‌شد و در اوّلین زمان ممکن به آزمایشگاه ویروس‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انتقال می‌یافت.

پس از انتقال نمونه های خون به آزمایشگاه و رسوب کردن گلبول‌های قرمز، فاز پلاسمای هر نمونه به عنوان پلاسمای غنی از لکوسیت با پیپت پاستور استریل برداشت شده و به لوله‌های ۱۵ میلی‌لیتری استریل انتقال داده شدند. نمونه‌های پلاسما به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰ RPM سانتریفیوژ گردیده و رسوب حاصل به عنوان لکوسیت‌های خونی پس از دو بار شست وشو با بافر سالین فسفات (PBS) با نسبت یک میلیون سلول در میلی‌لیتر در محیط کشت سلولی RPMI حاوی ۱۵ میکرولیتر میتوژن فیتوهماگلوتنین (شرکت اینویتروژن، آمریکا) در هر میلی‌لیترمخلوط و به حفرات پلیت کشت سلولی ۲۴ خانه انتقال داده شدند. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در انکوباتور CO_2 با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رسوب لکوسیت‌ها با سانتریفیوژ، رسوب با ۲۰۰ میکرولیتر از محیط رویی سلول‌ها مخلوط و مجموعه به دست آمده تا زمان استخراج DNA در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

استخراج DNA از لکوسیت‌های خونی کشت یافته در حضور میتوژن فیتوهماگلوتیین با بهره‌گیری از یک کیت تجاری استخراج DNA (شرکت یکتا تجهیزآزما، ایران) دارای ستون‌های فیلتر سیلیکا و طبق دستورالعمل کیت انجام شد. کیفیت و کمیت DNAهای استخراج گردیده با الکتروفورز در ژل آگارز و دستگاه نانو دراپ سنجیده شد، همچنین کیفیت DNAهای استخراج شده برای استفاده در آزمایش PCR با انجام PCR به‌وسیله پرایمرهای اختصاصی ژن RNA ریبوزومال 18S(18SU و 18SD)که قادر به تکثیر یک قطعه 488 bp از ژن کد کننده RNA ریبوزومی 18S بسیاری از پستانداران از جمله اسب هستند، تایید گردید.

پس از استخراج DNA از گلبول‌های سفید، آزمایش PCR با استفاده از یک زوج پرایمر اختصاصی EHV-4 (۱۹) که توالی آن‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است، انجام گردید.

جدول۲- توالی پرایمرهای استفاده شده در PCR برای شناسایی هرپس ویروس اسبی نوع ۴

ژن هدف	جایگاه پرایمرها	توالی پرایمرها
gB (شماره دسترسی: M26171)	پرایمر فوروارد	TACCCCTGGAGGTTTACACG
	پرایمر ریورس	TAGAATCGGAGGGCGTGAAG

هر واکنش PCR ۲۵ میکرولیتر و شامل اجزایی به شرح زیر بود: ۱ میکرولیتر DNA (تقریباً ۰/۱۵ میکروگرم) استخراج شده از لکوسیت‌های خونی، ۵/۱ میکرولیتر آب دوبار تقطیر استریل، ۱۲/۵ میکرولیتر PCR Master mix (شرکت آمپلیکون، دانمارک) با غلظت 2X، ۰/۵ میکرولیتر (۷/۵ پیکومول) از هر یک از پرایمرهای فوروارد و ریورس، ۰/۴ میکرولیتر فرمامید و ۵ میکرولیتر از محلول PCRaid 5x (شرکت رها زیست پادتن، ایران) که حاوی عوامل مؤثر بر ویژگی و بازده PCR است. در این آزمایش از آب مقطر به‌عنوان کنترل منفی و از DNA استخراج شده از واکسن کشته سه‌گانه Calvenza®-03) EHV-1/ EHV-4/Equine Influenza شرکت Boehringer Ingelheim GmbH، آلمان) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. برنامه حرارتی این آزمایش عبارت بود از: یک مرحله دناتوراسیون اولیه به‌مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۵° C ، ۶ چرخه تکثیر شامل ۹۴°C به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۷۰°C به مدت ۲۰ ثانیه (در هر سیکل، ۱ درجه سانتی‌گراد کاهش دما) و ۷۲ °C به‌مدت ۲۰ ثانیه و سپس ۳۹ چرخه تکثیر شامل ۹۴°C به مدت ۳۰ ثانیه، ۶۴°C به مدت ۲۰ ثانیه و ۷۲°C به مدت ۲۰ ثانیه و در پایان یک مرحله طویل سازی نهایی در دمای ۷۲C° به‌مدت۵ دقیقه. پس از اتمام آزمایش، ۱۰ میکرولیتر از محصولات PCR به‌آرامی درون چاهک‌های یک ژل آگارز ٪ ۲/۵، بارگذاری و در کنار کنترل‌های مثبت و منفی و نردبان ژنی ۱۰۰ bp الکتروفورز شدند. انتظار می‌رفت آزمایش PCR با پرایمرهای مذکور منجر به ساخت یک قطعه DNA با طول ۱۰۰ bp گردد.

برای اطمینان از ماهیت محصولات PCR، توالی تعدادی از آن‌ها با پرایمر فوروارد بررسی گردید. برای این منظور از خدمات تعیین توالی آزمایشگاه ژنتیک نور اهواز استفاده شد. پس از دریافت نتایج، با برنامه Blast، تطابق این توالی‌ها با توالی مربوط در ژنوم ویروس EHV-4 ارزیابی شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ به‌طور توصیفی و تحلیلی بررسی شد. به‌منظور تحلیل داده‌ها از آزمون مربع کای، رگرسیون لاجستیک، آزمون مان ویتنی و آزمون دقیق فیشر استفاده گردید. α =۰/۰۵ به منظورقضاوت آماری مد نظر قرار گرفت.

نتایج

در این بررسی با توجه به تعداد نمونه‌های مثبت در آزمایش PCR، میزان کلی آلودگی به هرپس ویروس اسبی نوع ۴ بدون توجه به فاکتورهای میزبانی و محیطی، ۱۶/۵۶ درصد (فاصله اطمینان ۹۵٪: ۱۰/۶۳ تا ۲۲/۴۹ درصد) تعیین گردید.

در جداول ۳ تا ۹ توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد منفی و مثبت آلودگی به هرپس‌ویروس اسبی نوع ۴ به ترتیب بر اساس سن، جنس، آبستنی، سابقه بیماری تنفسی، موقعیت جغرافیایی، سابقه جابجایی بین شهرهای استان خوزستان و سابقه خروج از این استان در اسبان این مطالعه آورده شده است. بر اساس نتایج آزمون‌های به‌عمل آمده هیچ‌کدام از فاکتورهای یاد شده، منجر به تاثیر آماری معنی‌دار بر میزان آلودگی اسبان تحت مطالعه نگشته‌اند (P>۰/۰۵). تنها استثنا، اختلاف میزان آلودگی بین دو شهر اهواز و رامهرمز (به‌ترتیب بیشترین و کمترین میزان) بود که از نظر آماری معنی‌دار تشخیص داده شد(P<۰/۰۵).

جدول ۳- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد منفی و مثبت آلودگی به هرپس‌ویروس اسبی نوع ۴ در اسبان خوزستان بر اساس سن

	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
کوچک‌تر مساوی ۶ ماه	۵	۷۱/۴	۲	۲۸/۶	۷	۴/۶
۶ ماه تا کمتر از ۳ سال	۴۵	۸۰/۴	۱۱	۱۹/۶	۵۶	۳۷/۱
۳ سال تا کمتر از ۱۰ سال	۵۳	۸۲/۸	۱۱	۱۷/۲	۶۴	۴۲/۴
بزرگ‌تر مساوی ۱۰ سال	۲۳	۹۵/۸	۱	۴/۲	۲۴	۱۵/۹
جمع کل	۱۲۶	۸۳/۴	۲۵	۱۶/۶	۱۵۱	۱۰۰

(P>۰/۰۵)

جدول ۴- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد منفی و مثبت آلودگی به هرپس‌ویروس اسبی نوع ۴ در اسبان خوزستان بر اساس جنس

	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
نریان	۴۴	۸۱/۵	۱۰	۱۸/۵	۵۴	۳۵/۸
مادیان	۸۲	۸۴/۵	۱۵	۱۵/۵	۹۷	۶۴/۲
جمع کل	۱۲۶	۸۳/۴	۲۵	۱۶/۶	۱۵۱	۱۰۰

(P>۰/۰۵)

جدول ۵- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد منفی و مثبت آلودگی به هرپس‌ویروس اسبی نوع ۴ در اسبان استان خوزستان بر اساس وضعیت آبستنی

	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
غیرآبستن	۲۰	۸۳/۳	۴	۱۶/۷	۲۴	۳۵/۸
آبستن	۳۹	۹۰/۷	۴	۹/۳	۴۳	۶۴/۲
جمع کل	۵۹	۸۸/۱	۸	۱۱/۹	۶۷	۱۰۰

(P>۰/۰۵)

جدول ۶- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد منفی و مثبت آلودگی به هرپس‌ویروس اسبی نوع ۴ در اسبان استان خوزستان بر اساس سابقه بیماری تنفسی

	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
ندارد	۹۱	۸۵/۸	۱۵	۱۴/۲	۱۰۶	۷۰/۲
دارد	۳۵	۷۷/۸	۱۰	۲۲/۲	۴۵	۲۹/۸
جمع کل	۱۲۶	۸۳/۴	۲۵	۱۶/۶	۱۵۱	۱۰۰

(P>۰/۰۵)

جدول ۷- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد منفی و مثبت آلودگی به هرپس‌ویروس اسبی نوع ۴ در اسبان استان خوزستان بر اساس موقعیت جغرافیایی

	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
اهواز	۳۰	۷۱/۴	۱۲	*۲۸/۶	۴۲	۲۷/۸
شوشتر	۲۶	۸۶/۷	۴	۱۳/۳	۳۰	۱۹/۹
شوش	۲۵	۸۳/۳	۵	۱۶/۷	۳۰	۱۹/۹
رامهرمز	۲۷	۹۳/۱	۲	*۶/۹	۲۹	۱۹/۲
ماهشهر	۱۸	۹۰	۲	۱۰	۲۰	۱۳/۲
جمع کل	۱۲۶	۸۳/۴	۲۵	۱۶/۶	۱۵۱	۱۰۰

* اختلاف از نظر آماری معنی‌دار (P<۰/۰۵) و در بین سایر مناطق غیر معنی‌دار بود (P>۰/۰۵).

جدول ۸- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد منفی و مثبت آلودگی به هرپس‌ویروس اسبی نوع ۴ در اسبان استان خوزستان بر اساس سابقه جابجایی بین شهرهای این استان

	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
ندارد	۸۶	۸۵/۱	۱۵	۱۴/۹	۱۰۱	۶۶/۹
دارد	۴۰	۸۰	۱۰	۲۰	۵۰	۳۳/۱
جمع کل	۱۲۶	۸۳/۴	۲۵	۱۶/۶	۱۵۱	۱۰۰

(P>۰/۰۵)

جدول ۹- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد منفی و مثبت آلودگی به هرپس‌ویروس اسبی نوع ۴ در اسبان استان خوزستان بر اساس سابقه خروج از این استان

	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
ندارد	۱۰۳	۸۴/۴	۱۹	۱۵/۶	۱۲۲	۸۰/۸
دارد	۲۳	۷۹/۳	۶	۲۰/۷	۲۹	۱۹/۲
جمع کل	۱۲۶	۸۳/۴	۲۵	۱۶/۶	۱۵۱	۱۰۰

(P>۰/۰۵)

آزمون رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد که شانس آلودگی بر اساس سن (برحسب سال) ۰/۸۸ (فاصله اطمینان ۹۵٪: ۰/۷۷ تا ۱/۰۰۱) بوده (P>۰/۰۵) و با افزایش ۱ سال به سن دام‌ها شانس آلودگی ۱۲ درصد کاهش می‌یابد، همچنین سن ۶ درصد از تغییرات بیماری را توجیه می‌کند.

شانس آلودگی نریان‌ها ۱/۲۴ برابر مادیان‌ها (فاصله اطمینان ۹۵٪: ۰/۵۲ تا ۳) می‌باشد (P>۰/۰۵) و جنسیت ۰/۳ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌سازد.

شانس آلودگی مادیان‌های غیرآبستن ۱/۹۵ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪: ۰/۴۴ تا ۸/۶۷) مادیان‌های آبستن بوده (P>۰/۰۵) و آبستنی با توجیه ۲/۲ درصد از نوسانات آلودگی همراه است.

شانس آلودگی اسبان دارای سابقه بیماری تنفسی ۱/۷۳ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪: ۰/۷۱ تا ۴/۲۲) اسبان فاقد چنین سابقه‌ای تعیین گردید (P>۰/۰۵). همچنین مشخص شد که این فاکتور ۱/۶ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

شانس آلودگی در اهواز نسبت به رامهرمز ۵/۴ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪: ۱/۱۱ تا ۲۶/۳۴) (P<۰/۰۵)، شوشتر نسبت به رامهرمز ۲/۰۸ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪: ۰/۳۵ تا ۱۲/۳۳) (P>۰/۰۵)، شوش نسبت به رامهرمز ۲/۷ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪: ۰/۴۸ تا ۱۵/۲) (P>۰/۰۵) و ماهشهر نسبت به رامهرمز ۱/۵ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪: ۰/۱۹ تا ۱۱/۶۴) (P>۰/۰۵) تعیین گردید.

موقعیت جغرافیایی ۷/۸ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌سازد.

شانس آلودگی اسبان دارای تاریخچه جابجایی در بین شهرهای استان ۱/۴۳ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪: ۰/۵۹ تا ۳/۴۷) اسبان فاقد این سابقه بوده (P>۰/۰۵) و این فاکتور به توجیه ۰/۷ درصد از تغییرات آلودگی کمک می‌کند.

شانس آلودگی اسبان دارای سابقه خروج از استان ۱/۴۱ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪: ۰/۵۱ تا ۳/۹۳) اسبان فاقد چنین تاریخچه‌ای بوده (P>۰/۰۵) و این فاکتور ۰/۵ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌سازد.

با بررسی نقش متغیرهای تحت بررسی با آزمون رگرسیون لاجستیک چند متغیره، مشخص گردید که تمام فاکتورهای تحت بررسی ۱۴/۸ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کنند؛ همچنین رگرسیون لاجستیک پس‌روند مشخص ساخت که هیچ‌کدام از عوامل میزبانی و محیطی، تأثیری معنی‌دار بر میزان آلودگی نداشته‌اند (P>۰/۰۵).

بحث

در این مطالعه در ۲۵ رأس (۱۶/۶ درصد) از ۱۵۱ رأس اسب نمونه‌گیری شده، شواهدی از وجود EHV-4 به‌اثبات رسید. میزان آلودگی اسبان به هرپس‌ویروس اسبی نوع ۴ در مطالعات مختلف، متفاوت اعلام گردیده است:

در سال ۱۹۹۲ با بررسی سواپ‌های بینی جمع آوری شده از ۳۲۷ رأس کره نژاد تروبرد موجود در سه مجموعه پرورش دام در نیوساوت ولز استرالیا با روش PCR، مشخص گردید که ۲۶ رأس از دام‌ها آلوده به EHV-4 بوده‌اند. نتایج کشت این ۲۶ نمونه با جداسازی ویروس از ۱۹ نمونه همراه گشت. قابل توجه آن‌که از مجموعه دام‌های نمونه‌گیری شده، ۲۱۷ رأس در زمان نمونه‌گیری واجد نشانه‌های بالینی درگیری قسمت‌های فوقانی دستگاه تنفس بودند (۱۰).

در سال ۱۹۹۴ مطالعه‌ای روی ۴۰ رأس اسب در کشتارگاهی در جنوب شرقی انگلستان صورت گرفت. در معاینه قبل از مرگ، سلامتی همه اسب‌ها تایید شد. به وسیله کشت، EHV-4 از ۶۰ درصد اسب‌ها در زمان کشتار جدا گردید. نتایج نشان داد که نهفتگی EHV-4 در جمعیت اسب‌ها گسترده و محل اولیه نهفتگی، غدد لنفاوی دستگاه تنفسی بوده است (۸).

در فوریه سال ۱۹۹۵، در ناحیه هانتر والی ایالت نیوساوت‌ولز استرالیا، فراوانی حضور آنتی‌بادی علیه EHV-4، در ۲۲۹ رأس مادیان و کره، با روش الایزا بررسی شد. نتایج مشخص ساخت که بیش از ۹۹ درصد از دام‌های تحت مطالعه از نظر حضور آنتی‌بادی، مثبت بوده‌اند (۱۱).

Dunowska و همکاران در سال ۲۰۰۲ ادعا کردند که تقریبا در همه اسب‌های بالای ۶۰ روز، شواهدی از آلودگی به این ویروس قابل پی‌گیری خواهد بود.

پژوهشگران کشور ترکیه با ارزیابی دام‌های واکسینه نشده فاقد و دارای نشانه‌های بالینی درگیری با EHV-4 به روش الایزا و در فاصله سال‌های ۲۰۰۳ تا ۲۰۰۷ اعلام کردند که از مجموع ۲۷ رأس اسب دارای نشانه‌های اختلالات تنفسی، ۱۸ رأس (۶۶/۷٪) و از ۲۶۳ رأس اسب فاقد این نشانه‌ها، ۲۱۹ رأس (۸۳/۳٪) واجد آنتی‌بادی علیه ویروس بوده‌اند. نتایج آزمایش PCR نمونه‌های خون هپارینه و سواپ بینی نیز به‌ترتیب در ۴ مورد (۱۹٪) و ۹ مورد (۲۲/۵٪) مثبت اعلام گردیده است (۴).

با بررسی انجام شده در پنج استان جنوب شرقی ترکیه در فاصله زمانی نوامبر ۲۰۱۱ تا ژانویه ۲۰۱۲، مشخص گردید که در خون ۱۰۱ رأس از ۱۵۰ رأس اسب غیرواکسینه، آنتی‌بادی اختصاصی ضد EHV-4 وجود داشته است. آزمایش استفاده شده در این مطالعه الایزای، غیر مستقیم بوده است (۵). مطالعه دیگر صورت گرفته در

سال‌های ۲۰۱۳ تا ۲۰۱۴، روی سرم خون ۴۲۳ رأس اسب غیرواکسینه نگه‌داری شده در دو استان شمال شرقی ترکیه به روش الایزا نیز دلالت بر حضور آنتی‌بادی‌های اختصاصی ویروس، در ۸۳/۷ درصد نمونه‌ها دارد (۲۳).

در سال‌های اخیر، مطالعه در باره‌ی EHV-4 در کشور ما نیز مورد توجه گروهی از پژوهشگران قرار گرفته است. برای مثال در مطالعه‌ای که با هدف تعیین فراوانی آلودگی سرمی اسب‌ها به این ویروس در یک دوره ۶ ماهه (از تابستان تا زمستان ۱۳۸۱) روی ۱۷۴ نمونه اخذ شده از اسب‌های چهارمحال بختیاری صورت گرفت، ۹۶/۶۸ درصد از دام‌ها از نظر آلودگی مثبت ارزیابی شدند. آزمایش استفاده شده در این پژوهش الایزای غیرمستقیم بوده است (۲).

در پاییز سال ۱۳۸۶ با بررسی انجام گرفته به روش الایزا، روی ۵۱ رأس اسب نگه‌داری شده در تعدادی از اسب‌داری‌های اهواز، حضور آنتی‌بادی علیه EHV-4 در ۴۵ نمونه (۸۸/۲٪) به‌اثبات رسید (۱).

از مارس ۲۰۱۱ تا دسامبر ۲۰۱۲، دویست رأس اسب بالغ موجود در ۸۰ منطقه مختلف روستایی شمال شرق ایران، با Real-time PCR مطالعه گردیدند. در این پژوهش ۸۸ درصد دام‌ها آلوده به EHV-4 تشخیص داده شدند (۱۹).

مطالعه انجام گرفته در استان‌های اصفهان و چهارمحال و بختیاری در سال ۲۰۱۴، مشخص کرد که در این دو استان، میزان موارد مثبت آزمایش PCR از نظر حضور DNA این ویروس، به‌ترتیب ۱۶/۹۸ و ۱۶/۲۱ درصد بوده است (۲۱).

رئوفی و همکاران با مطالعه نمونه‌های خون و سواپ بینی ۱۵۰ رأس اسب از چهار استان تهران، گلستان، آذربایجان غربی و خوزستان (نمونه‌ها تنها محدود به شوش و دزفول بوده است) به روش Real time PCR، میزان حضور DNA ویروس در نمونه‌های نام برده را به ترتیب ۴/۶ و ۸/۶ درصد اعلام کردند(۱۸).

با مقایسه‌ی نتایج مطالعات مختلف، از جمله بررسی حاضر با یکدیگر، نکات زیر قابل طرح خواهد بود:

الف- روش تشخیصی به‌کار رفته در یک مطالعه، در میزان نمونه‌های مثبت به‌دست آمده، تأثیر دارد. بر این اساس زمانی که از آزمایش‌های سرولوژیک استفاده شده، میزان آلودگی از مواقع به‌کارگیری PCR بیشتر بوده است:

در مطالعات Gilkerson و همکاران در سال ۱۹۹۹، Ataseven و همکاران در سال ۲۰۰۹، Avci و همکاران در سال ۲۰۱۴، Yildirim و همکاران در سال ۲۰۱۵، ممتاز و همت‌زاده در سال ۱۳۸۲ و عیدی دلورزاده در سال ۱۳۸۶، روش‌های سرولوژیک با به‌دست آمدن به ترتیب ارقام ۹۹٪، ۶۶/۷٪ و ۸۳/۳٪، ۶۷/۳۳٪، ۸۳/۷۲٪، ۹۶/۶۸٪ و ۸۸/۲٪ همراه بوده است، در حالی که در زمان استفاده از PCR، ارقام حاصل به مراتب کمتر (۷/۹۵٪، ۱۹٪ و ۲۲/۵٪، ۱۶/۹۸٪ و ۱۶/۲۱، ۴/۶٪ و ۸/۶٪ به‌ترتیب در مطالعات Gilkerson و همکاران در سال ۱۹۹۴، Ataseven و همکاران در سال ۲۰۰۹، Taktaz Hafshejani و همکاران در سال ۲۰۱۵ و Raoofi و همکاران در سال ۲۰۱۷) هستند.

در بین مطالعات اشاره شده، نتایج پژوهش Ataseven و همکاران در سال ۲۰۰۹ که روی اسبانی ثابت و با دو روش مختلف انجام گرفته (میزان آلودگی به روش الایزا ۶۶/۷ و ۸۳/۳ درصد به‌ترتیب در اسبان با و بدون وجود نشانه‌های تنفسی و ۱۹ درصد در روش PCR) تأکیدی قابل توجه بر نقش نوع روش تشخیصی بر میزان آلودگی اعلام شده، دارد. با توجه به آن که بسیاری از اسبان به‌عنوان نتیجه‌ای از عفونت قبلی (یا واکسیناسیون) دارای آنتی‌بادی علیه EHV-4 هستند (۶)، بالاتر بودن ارقام آلودگی به‌دست آمده از آزمایش‌های سرولوژیک در مقایسه با PCR منطقی به‌نظر می‌رسد. شاید به همین دلیل باشد که عنوان می‌گردد مشخص ساختن حضور آنتی‌بادی به‌تنهایی نمی‌تواند به‌خودی خود حضور ویروس در بدن دام را تایید کند (۶).

در بین مطالعات پیش‌گفته، نتایج آزمایش PCR انجام شده از سوی Sarani و همکاران در سال ۲۰۱۳، (۸۸٪ مثبت) با توضیح پیش گفته قابل توجیه نیست. در این پژوهش ممکن است به‌جز روش تشخیصی به‌کار رفته، سایر عوامل (از جمله نقش عوامل خطر) رقمی متفاوت را حاصل کرده باشد.

ب- در یک روش ثابت (PCR) میزان حضور EHV-4 در نمونه‌های که از محل معمول استقرار ویروس به‌دست آمده (دستگاه تنفس)، بیشتر از خون است؛ برای مثال در مطالعه Ataseven و همکاران در سال ۲۰۰۹، میزان موارد

مثبت در آزمایش خون هپارینه ۱۹ درصد، و در موارد سوآپ برداری از بینی ۲۲/۵ درصد بوده است، همچنین در پژوهش Raoofi و همکاران در سال ۲۰۱۷ نیز میزان حضور ویروس در خون و سوآپ بینی به‌ترتیب ۴/۶ و ۸/۶ درصد اعلام گردیده است.

ج- در یک مطالعه ثابت با روش یکسان (الایزا)، میزان آلودگی در دام‌های با یا بدون نشانه‌های بالینی می‌تواند متفاوت باشد؛ برای مثال در بررسی Ataseven و همکاران در سال ۲۰۰۹، در خون ۶۶/۷٪ و ۸۳/۳ درصد اسبان به‌ترتیب با یا بدون نشانه درگیری تنفسی، آنتی‌بادی ضد ویروس یافت گردید. در نگاه اوّل این یافته غیرعادی به‌نظر می‌رسد؛ چرا که انتظار می‌رود دام‌های درگیر، آلوده‌تر از دام‌های به‌ظاهر سالم باشند، امّا با عنایت به آن که روش سرولوژی به‌کار رفته حضور آنتی‌بادی و نه ویروس را نشان می‌دهد و با توجه به آن که پدیدار گشتن آنتی‌بادی در خون معمولاً پس از غلبه یافتن بر ویروس اتفاق می‌افتد، ممکن است در صورتی که نمونه‌گیری دام‌های واجد نشانه، پس از سپری شدن بیماری انجام می‌شد، ارقامی بالاتر از میزان فعلی به‌ثبت می‌رسید.

در مجموع و با مقایسه میزان آلودگی ثبت شده در بررسی حاضر، با ارقام به‌دست آمده از سایر مطالعات در مورد میزان حضور ویروس در جمعیت‌های اسب با روش PCR، هم‌خوانی اعداد با پژوهش Taktaz Hafshejani و همکاران در سال ۲۰۱۵ بسیار قابل توجه است. بدون تردید شباهت با این مطالعه و اختلاف با سایر پژوهش‌ها می‌تواند با شباهت‌ها و تفاوت‌های موجود در شرایط نگه‌داری، جمعیت مطالعه شده، فصل نمونه‌گیری و سایر عوامل خطر مرتبط باشد.

در این مطالعه؛ اگرچه با افزایش سن از میزان آلودگی به EHV-4 کاسته شده و به‌ازای افزوده گردیدن ۱ سال به سن دام‌ها، شانس آلودگی ۱۲ درصد کاهش یافته‌است، امّا تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های سنی مختلف از نظر فراوانی حضور این ویروس مشاهده نگردید. گفته می‌شود که اسب می‌تواند در هر مرحله‌ای از زندگی به EHV-4 آلوده شود. در عین حال در اسبان جوان نسبت به اسبان مسن‌تر، میزان جداسازی ویروس و شدت نشانه‌های بالینی بیشتر است. به‌عبارت دیگر به‌نظر می‌رسد که با افزایش سن از حساسیت دام به بیماری کاسته می‌گردد. بر این اساس چنین ادعا می‌شود که عفونت ناشی از هرپس‌ویروس اسبی نوع ۴ در اسبان جوان با سن ۲ ماه تا ۲ سال رایج‌تر است. باید دانست که کره‌های جوان، آلودگی به این ویروس را از طریق مادر و یا سایر اسبان گلّه کسب کرده و می‌توانند در مراحل بعدی زندگی ویروس را از طریق ترشحات بینی دفع کنند (۶).

در پژوهش حاضر؛ اگرچه میزان آلودگی اسبان نر بیشتر از مادیان‌ها بوده، امّا تفاوت آماری معنی‌داری بین این ۲ مشاهده نشد. منابع نیز جنسیت را به‌عنوان یک عامل خطر مطرح نکرده‌اند.

با مرور نتایج به‌دست آمده، مشخص می‌گردد که میزان نتایج مثبت در آزمایش PCR در مادیان‌های آبستن کمتر از مادیان‌های غیرآبستن بوده است. در این زمینه نیز تفاوت آماری معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نگردید. با جست وجو در منابع مشخص می‌گردد که وضعیت آبستنی نیز به‌عنوان یک عامل خطر آلودگی به EHV-4 مورد توجه قرار نگرفته است.

همان‌طور که می‌دانیم، اصلی‌ترین نمود درگیری با EHV-4، بروز بیماری تنفسی است (۳). در پژوهش حاضر؛ اگرچه میزان آلودگی در اسبان با سابقه این گروه از بیماری‌ها بیشتر از اسبان فاقد چنین تاریخچه‌ای است، امّا اختلاف آن‌ها از نظر آماری معنی‌دار نیست. بنابراین می‌توان ادعا کرد که به احتمال زیاد عامل ایجاد مشکل تنفسی در دام‌هایی که واجد چنین تاریخچه‌ای بوده‌اند سایر عوامل سبب‌شناسی موجد این گروه از بیماری‌ها بوده است. با عنایت به مطالب گفته شده، به‌نظر می‌رسد در صورتی که هم‌زمان با PCR از آزمایش‌های سرولوژیک نیز استفاده می‌گردید، امکان بیان ادعای پیش‌گفته با دقت بیشتری فراهم می‌گشت.

در این مطالعه میزان آلودگی اسبان شهرستان اهواز بیشتر از سایر شهرها (شوشتر، شوش، رامهرمز و ماهشهر) بوده، امّا این تفاوت تنها با رامهرمز (کمترین میزان آلودگی) معنی‌دار است ($P<0/05$). در خصوص چرایی این یافته، دلیل محکمی نمی‌توان بیان داشت، امّا با عنایت به ویژگی‌های شهرستان اهواز که سبب می‌شود مسابقات مرتبط با اسب بیشتر در این مرکز استان به انجام رسد،

ممکن است میزان مواجهه با دام‌های حامل ویروس در اسبان این شهرستان بیشتر از سایر مناطق باشد، همچنین مشاهده جدول ۱ نشان می‌دهد که بالاترین میزان جابجایی اسبان در استان همراه با خروج همان اسب از خوزستان (۱۱/۹٪)، مربوط به اهواز بوده و کمترین آن به رامهرمز (۳/۳٪) تعلق داشته است. به نظر می‌رسد که توجه به این اعداد و جایگاه شهرستان‌های مختلف در میزان جابجایی اسبان نیز بتواند تا حدودی نقش استرس را در کمک به بالاتر بودن میزان آلودگی در اهواز و کمتر بودن آن در رامهرمز توضیح دهد. بدیهی است که در تحلیل تفاوت موجود در میزان آلودگی اسبان اهواز و رامهرمز به EHV-4، نقش سایر عوامل خطر اثرگذار که می‌تواند در شهرهای مختلف با درجات متفاوت مطرح باشند نیز باید ارزیابی شود.

آلودگی و جابجایی در بین شهرهای استان خوزستان: اگرچه در این پژوهش اسبان با سابقه جابجایی در استان، آلوده‌تر از دام‌های فاقد چنین سابقه‌ای تشخیص داده شدند، امّا تفاوت بین این دو گروه از نظر آماری معنی‌دار نبود. به‌هرحال نقش جابجایی در ایجاد استرس و افزایش فعالیت ویروس، پیش از این و در قسمت‌های قبلی در نظر قرار گرفته است.

در قسمت ارتباط آلودگی و موقعیت جغرافیایی، نکات مرتبط با سابقه خروج از استان نیز به‌ضرورت مطرح گردید، به‌هرحال با نگاه به این عامل، بدون توجه به سایر علل بررسی شده، مشخص می‌گردد که تفاوت معنی‌داری بین اسبان با یا بدون سابقه خروج از استان در میزان آلودگی وجود ندارد. لازم به توضیح است که در این گروه از دام‌ها، استرس جابجایی قابل توجه بوده و معمولاً این کار به‌منظور شرکت اسب در مسابقات یا جفت‌گیری صورت می‌گیرد که شانس مواجهه با دام‌های آلوده‌ی به‌ظاهر سالم را افزایش خواهد داد. نکته‌ی اخیر، درباره جابجایی در سطح استان نیز مطرح خواهداست.

در مجموع، نتایج بررسی حاضر نشان می‌دهد که؛ اگرچه میزان موارد مثبت به‌ثبت رسیده در این پژوهش، در مقایسه با پژوهش‌های پیشین به‌عمل آمده با بهره بردن از روش الایزا، به‌مراتب کمتر است، امّا ویروس در سطح اسبان استان حضور دارد.

قدردانی و تشکر

پژوهش حاضر با پشتیبانی مالی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز - که در قالب پژوهانه استادان راهنما و مشاور تأمین گردید- به انجام رسیده است.

منابع

۱- عیدی دلورزاده، مهدی؛ بررسی احتمال آلودگی به هرپس‌ویروس اسبی ۱ و ۴ در اسبان شهرستان اهواز؛ پایان‌نامه دکتری عمومی دامپزشکی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار؛ ۱۳۸۶؛ شماره ۷۱۸.

۲- ممتاز، حسن و همت‌زاده، فرشید؛ بررسی سرمی آلودگی به هرپس‌ویروس ۱ و ۴ اسبی در استان چهارمحال بختیاری به روش الایزا؛ مجله پژوهش و سازندگی؛ ۱۳۸۲؛ ۱۶(۲): ۶۳-۶۹.

3- Allen, G.P; Kydd, J.H; Slater, J.D. and Smith, K.C; Equid herpesvirus-1 and equid herpesvirus-4 infections. Coetzer JAW, Tustin RC, Infectious diseases of livestock. Oxford University Press; 2004; 829-859.

4- Ataseven, V.S; Dağalp, S.B; Güzel, M; Başaran, Z; Tan, M.T. and Geraghty, B; Prevalence of equine herpesvirus-1 and equine herpesvirus-4 infections in equidae species in Turkey as determined by ELISA and multiplex nested PCR. Res. Vet. Sci; 2009; 86(2): 339-44.

5- Avci, O; Yavru, S; Tokgoz, S. and Kale, M; Detection of Antibodies against Equine Herpes Virus-1 and Equine Herpes Virus-4 in Horses in Southeast Anatolia by Indirect Elisa. Acta Sci Vet; 2014; 42(1): 1-5.

6- Constable, P.D; Hinchcliff, K.W; Done, S.H. and Grunberg, w; Veterinary Medicine. 11th Ed.; Elsevier; 2017; pp: 1040-1043.

7- Dunowska, M; Wilks, C.R; Studdert, M.J. and Meers, J; Equine respiratory viruses in foals in New Zealand. N Z Vet J; 2002; 50(4): 140-147.

8- Edington, N; Welch, H.M. and Griffiths, L; The prevalence of latent equid herpesviruses in the tissues of 40 abattoir horses. Equine Vet. J; 1994; 26(2): 140-142.

9- Giles, R.C; Donahue, J.M; Hong, C.B; Tuttle, P.A; Petrites-Murphy, M.B; Poonacha, K.B. and Swerczek, T.W; Causes of abortion, stillbirth, and perinatal death in horses: 3,527 cases (1986-1991). J. Am. Vet. Med. Assoc; 1993; 203(8): 1170-1175.

10- Gilkerson, J; Jorm, L.R; Love, D.N; Lawrence, G.L. and Whalley, J.M; Epidemiological

excretion assessed by nasal swabs taken from thoroughbred foals. Vet. Microbiol; 1994; 39(3-4): 275-283.

11-Gilkerson, J.R; Whalley, J.M; Drummer, H.E; Studdert, M.J. and Love, D.N; Epidemiology of EHV-1 and EHV-4 in the mare and foal populations on a Hunter Valley stud farm: are mares the source of EHV-1 for unweaned foals. Vet. Microbiol; 1999; 68(1-2): 27-34.

12- Hu, Z; Zhu, C; Chang, H; Guo, W; Liu, D; Xiang, W. and Wang, X; Development of a single-tube duplex EvaGreen real-time PCR for the detection and identification of EHV-1 and EHV-4. Appl. Microbiol. Biotechnol; 2014; 98(9): 4179-4186.

13- Iqbal, J. and Edington, N; Equid herpesvirus 1 is neurotropic in mice, but latency from which infectious virus can be reactivated does not occur. Acta Vet; 2002; 50(1): 117-129.

14- Landolt, G.A; Equine Respiratory viruses. In: Large animal internal medicine. Ed. By Smith B.P; 5th Ed.; Elsevier; 2015; pp: 512-521.

15- McBrearty, K.A; Murray, A. and Dunowska, M; A survey of respiratory viruses in New Zealand horses. N Z Vet J; 2013; 61(5): 254-261.

16- Murray, M.J; del Piero, F; Jeffrey, S.C; Davis, M.S; Furr, M.O; Dubovi, E.J. and Mayo, J.A; Neonatal equine herpesvirus type 1 infection on a thoroughbred breeding farm. J. Vet. Intern. Med; 1998; 12(1): 36-41.

17- Patel, J.R. and Heldens, J; Equine herpesviruses 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4)–investigation of equid herpesvirus-4 (EHV-4) epidemiology, disease and immunoprophylaxis: a brief review. Vet. J; 2005; 170(1): 14-23.

18- Raoofi, A; Madadgar, O; Akbarein, H; Ghalyanchi langroodi, A; Tazikeh, A; Ghadrdan Mashhadi, A.R. and Sarani, A; A survey of equine herpes virus 1 and 4 infections in four provinces of Iran by use of real time PCR taqman assay. ICLAP Conference; 2017; 87.

19- Sarani, A; Mohammadi, G.R; Mayameei, A. and Akbari, M; Investigation of equine herpesvirus-1 and 4 infections in equine population of Iran by real-time PCR. Hum. Vet. Med; 2013; 5: 29-33.

20- Slater, j; Equine herpesviruses. In: Equine infectious diseases. Ed. By Sellon, D.C. and Long, R.J; 2th Ed.; Elsevier; 2014; pp: 151-168.

21- Taktaz Hafshejani, T; Nekoei, S; Vazirian, B; Doosti, A; Khamesipour, F. and Anyanwu, M.U; Molecular detection of equine herpesvirus types 1 and 4 infections in healthy horses in Isfahan central and Shahrekord southwest regions, Iran. BioMed Res. Int; 2015: 23-30.

22- Van Maanen, C; Willink, D.L; Smeenk, L.A.J; Brinkhof, J. and Terpstra, C; An equine herpesvirus 1 (EHV1) abortion storm at a riding school. Vet Q; 2000; 22(2): 83-87.

23- Yildirim, Y; Yilmaz, V. and Kirmizigul, A.H; Equine herpes virus type 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) infections in horses and donkeys in northeastern Turkey. Iran J Vet Res; 2015; 16(4): 341.

Vol.16/No.2
Fall-Winterer 2022-2023

Iran. J. Vet. Clin. Sci.; 2023; 16(2): 35-46.
http://doi.org/10.22034/ijvcs.2022.13473.0

A survey on Equine Herpes Virus-4 Infection in Horses of Khuzestan Province

Ali Reza Ghadrdan Mashhadi[1*]; Hadi Hadinasab[2]; Masoud Reza Seyfi Abad Shapouri[3]; Mehdi Pourmahdi Boroujeni[4]

1. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz- Iran.
2. DVM Graduate Student, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz- Iran.
3. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz- Iran.
4. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz- Iran.

Received: 18 May 2022 ***Accepted:*** 7 September 2022

Summery

Equine Herpesvirus type 4 (EHV-4) is one of the most important world-wide distributions of equine herpes viruses. This virus mainly causes respiratory diseases in this animal. The present study attempted to determine the existence of this virus among the horse population of Khuzestan province. One hundred fifty-one horses kept in a number of clubs in different cities of the province were sampled and they were tested by applying PCR. The data were analyzed using SPSS version 16 to administer the Chi-square test, logistic regression, Mann-Whitney test and Fisher's Exact test and the degree of freedom was set on $\alpha = 0.05$. The results of the study showed that the overall rate of infection with EHV-4 in horses was 16/56% disregarding the host and environmental factors. The results also indicated that age, gender, pregnancy status, history of respiratory diseases, and the history of displacement between the cities of Khuzestan province and the exit from the province did not have a significant effect on the amount of infection ($P>0.05$). At the same time, the rate of infection of horses in Ahvaz was higher than that of other cities (Shooshtar, Shoosh, Ramhormoz and Mahshahr), but this difference turned out to be significant only in relation to Ramhormoz (lowest infection rate) ($P<0.05$). The results of the study showed that although the positive cases reported in this study were far lower compared to the previous studies using the ELISA method, the existence of the virus in the horses of the province remained significant.

Keywords: Equine Herpesvirus type 4, Horse, Khuzestan, PCR.

***Corresponding Author Email:** kianeg2000@yahoo.com