Archive of SID

بررسی سرولوژیکی میزان آلودگی به ویروس کم‌خونی عفونی اسب‌ها در منطقه تبریز

علی حسن پور[1*]، امیرپرویزرضایی صابر[1]، فرهاد موسی‌خانی[2]

۱. استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
۲. استادیارگروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران
* نویسنده مسئول مکاتبات: *Alihassanpour@iaut.ac.ir*

(دریافت مقاله: ۸۸/۱۲/۲۲ پذیرش نهایی: ۸۹/۹/۱)

چکیده

کم‌خونی عفونی اسب یک بیماری ویروسی با عامل لنتی ویروس در تک سمیان است که منجر به تب، کم خونی همولیتیک، زردی، افسردگی و کاهش وزن مزمن می‌شود. این مطالعه به منظور ارزیابی میزان آلودگی سرمی به این ویروس در اسب‌های منطقه تبریز انجام گرفت. از ۲۸۷ رأس اسب (۲۰۰ رأس نریان و ۸۷ رأس مادیان) نمونه سرمی اخذ شد و پس از سانتریفوژ سرم جدا گردید. جهت جستجوی آنتی بادی‌های سرمی بر علیه این ویروس از روش ELISA و کیت IDEXX استفاده شد. میانگین میزان تراکم نوری (OD) در این نمونه‌ها ۰/۰۱٦± ۰/۳۷۲ بود که کمترین آن ۰/۲۷۳ و بالاترین آن ۰/۵۱۱ بود و بر اساس تفسیر نتایج هیچ موردی مثبتی وجود نداشت. میانگین OD در اسب‌های نر ۰/۰۱٤± ۰/۳۸۱ و در اسب‌های ماده ۰/۰۱۰ ± ۰/۳۸۷ بود که اختلاف آماری معنی‌داری در بین دو گروه وجود نداشت (p=۰/۳۵٦). اسب‌های تحت بررسی در ٤ گروه سنی ۳-۱ (٥٤ رأس)، ٦-۳ سال (۱۲٥ رأس)، ۹-٦ سال (۷۰ راس) و بالای ۹ سال (۳۸ رأس) تقسیم شدند که میانگین OD ثبت شده در این نمونه‌ها به‌ترتیب ۰/۰۱۱ ± ۰/۳۷۳، ۰/۰۱۲ ± ۰/۳۸۱، ۰/۰۰۹ ± ۰/۳۸۳ و ۰/۰۱۷ ± ۰/۳۸۸ بود. نتیجه نهایی اینکه بر اساس تست الایزا آلودگی سرمی به ویروس کم خونی عفونی اسب در اسب‌های تحت بررسی سطح منطقه تبریز وجود نداشت.

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳۸۹، دوره ٤، شماره ۲، پیاپی ١٤، صفحات: ٨٤١-٨٣٧

کلید واژه‌ها: کم‌خونی عفونی اسبان، آلودگی سرولوژیک، الایزا، تبریز

مقدمه

بیماری کم‌خونی عفونی اسب‌ها (Equine Infection Anemia) یک بیماری ویروسی است که توسط ویروس کم خونی عفونی اسب که یک لنتی ویروس از خانواده رتروویریده می‌باشد، ایجاد می‌شود. حشرات در انتقال این بیماری نقش اصلی را دارند که با انتقال مکانیکی ویروس از دام‌های آلوده به دام‌های سالم باعث ایجاد اپیدمی می‌شوند (۲، ۳ و ٤). این بیماری در تمام نقاط دنیا وجود دارد و احتمال وجود بیماری در ایران و منطقه تبریز نیز وجود دارد، در مطالعات صورت گرفته در ایران نیز به این موضوع اشاره شده است (۱ و ١٤). اسب، پونی و قاطر نسبت به این بیماری حساسند ولی الاغ مقاوم بوده و نقش ناقل را ممکن است داشته باشد (٥ و ٦). انتقال بیماری علاوه بر حشرات با سرسوزن مشترک و وسایل

www.SID.ir

Archive of SID

جراحی غیر استریل نیز میسر است. نشانه‌های بیماری به‌صورت تب، دپرسیون، ادم، هموراژی، سقط جنین، کاهش وزن مزمن، بزرگی طحال، کم خونی و رنگ پریدگی مخاطات می‌باشد (۷، ۸ و ۱۵). در بیشتر موارد دام ممکن است از لحاظ سرمی مثبت ولی فاقد نشانه‌های بالینی باشد که این تحقیق به منظور شناسایی سرمی اسب‌های آلوده در منطقه تبریز صورت گرفت. جهت شناسایی آنتی بادی‌های تولید شده علیه پروتئین‌های ویروس از روش‌های AGID و ELISA استفاده می‌شود. این مطالعه به منظور تعیین میزان آلودگی سرمی اسب‌های منطقه تبریز به ویروس کم‌خونی عفونی اسب‌ها و مقایسه میزان آلودگی سرولوژیک اسب‌های منطقه تبریز به ویروس کم‌خونی عفونی اسب‌ها در بین دو جنس نر و ماده انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در قالب یک مطالعه توصیفی روی ۲۸۷ رأس اسب انجام شد. در تابستان ۱۳۸۸ با مراجعه به محل‌های نگه‌داری اسب در اطراف تبریز از ورید وداج خون‌گیری به عمل آمد. نمونه‌های خونی پس از لخته شدن به آزمایشگاه منتقل و با سانتریفیوژ سرم جدا شد و فریز گردید. در مورد هر اسب، جنس و سن یادداشت شد. سرم‌ها در فریزر نگه‌داری شده و پس از جمع شدن کامل نمونه‌ها سرم‌ها در شرایط فریز به آزمایشگاه تخصصی مبنا واقع در کرج ارسال شد. در روز انجام آزمایش سرم‌ها از فریزر خارج شد و میزان آلودگی سرولوژیک به ویروس کم خونی عفونی اسب‌ها به روش الایزا با استفاده از کیت ADDEX اندازه‌گیری شد. در نهایت میانگین تیتر حاصله، میزان آلودگی سرولوژیک و میزان آلودگی در بین دو جنس و سنین مختلف بررسی شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری spss ویرایش ۱۷ استفاده شد که میزان آلودگی به‌صورت توصیفی بیان شد و جهت مقایسه میانگین‌ها در بین دو جنس نر و ماده از روش t-Test وجهت مقایسه در بین سنین مختلف از روش ANOVA استفاده شد.

یافته‌ها

این مطالعه در سال ۱۳۸۹ روی ۲۸۷ رأس اسب در منطقه تبریز انجام گرفت که ۲۰۰ رأس نر و ۸۷۱۹ رأس ماده بودند. میانگین میزان تراکم نوری (OD) برای جستجوی آنتی‌بادی ویروس کم خونی عفونی اسبان در این نمونه‌ها ۰/۰۱٦±۰/۳۷۲ بوده که بر اساس تفسیر نتایج ارائه شده در کیت الایزای این ویروس که OD کمتر از ۰/۱۵ مثبت تلقی می‌شود، هیچ‌کدام از ۲۸۷ نمونه اخذ شده مثبت نبودند. کمترین OD ثبت شده ۰/۲۷۳ و بالاترین آن ۰/۵۱۱ بود.

میانگین OD در اسب‌های نر ۰/۰۱٤ ± ۰/۳۸۱ و در اسب‌های ماده ۰/۰۱۰ ± ۰/۳۸۷ بود که در تجزیه و تحلیل آماری اختلاف آماری معنی‌داری بین میزان آلودگی در جنس نر و ماده وجود نداشت (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین مقادیر تراکم نوری در دو جنس نر و ماده

جنس	میانگین OD	خطای استاندارد	سطح معنی‌داری
نر	۰/۳۸۱	۰/۰۱٤	۰/۳٥٦
ماده	۰/۳۸۷	۰/۰۱۰	

اسب‌های تحت بررسی در ٤ گروه سنی ۳-۱ سال (٥٤ رأس)، ٦-۳ سال (۱۲٥ رأس) ۹-٦ سال (۷۰ رأس) و بالای ۹ سال (۳۸ رأس) قرار گرفتند که میانگین تراکم نوری در این گروه‌های سنی به ترتیب ۰/۰۱۱ ± ۰/۳۷۳، ۰/۰۱۲ ± ۰/۳۸۰، ۰/۰۰۹± ۰/۳۸۳ و ۰/۰۱۷± ۰/۳۸۸ بود که در آنالیز اختلاف آماری معنی‌داری در بین گروه‌های سنی وجود نداشت و ارتباط معنی‌داری بین کاهش یا افزایش سن با میزان تراکم نوری بر علیه آنتی‌بادی‌های این ویروس مشاهده نشد (جدول ۲)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۲- مقایسه میانگین (mean±SEM) میزان تراکم نوری در گروه‌های سنی مختلف

گروه سنی	۳-۱ سال	٦-۳ سال	۹-٦ سال	بالای ۹ سال
OD	۰/۳۷۳ ± ۰/۰۱۱[a]	۰/۳۸۱ ±۰/۰۱۲ [a]	۰/۳۸۳ ±۰/۰۰۹ [a]	۰/۳۸۸ ±۰/۰۱۷ [a]

a,b,c حروف غیرمشابه در هر ردیف نشانه اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

در حال حاضر کنترل کم خونی عفونی اسبان بر اساس تعیین و شناسایی ویروس کم‌خونی عفونی اسبان و آنتی‌بادی‌های ضد آن پایه‌ریزی شده است. PCR و الایزا جزو روش‌هایی هستند که جهت شناسایی دام‌های آلوده کاربرد دارد (۱۳ و ۱۵). در این مطالعه با روش الایزا ردپای این بیماری در اسب‌های منطقه تبریز بررسی گردید. با توجه به اینکه تا به‌حال تحقیق جامعی در خصوص میزان آلودگی سرولوژیک به ویروس کم خونی عفونی اسبان در تبریز انجام نگرفته بود، انجام این تحقیق توانست که میزان این آلودگی را مشخص نماید تا راهکارهای لازم جهت جلوگیری از انتشار آلودگی ارائه شود. در این مطالعه بر اساس تفسیر نتایج حاصل از میزان تراکم نوری (OD) در دستورالعمل ارائه شده کیت مشخص شد که هیچ کدام از نمونه‌های اخذ شده مثبت نبودند طوری که کمترین OD ثبت شده ۰/۲۷۳ و بالاترین آن ۰/۵۱۱ بود. در مطالعه انجام گرفته در ایران روی ۳۱۰ رأس اسب با روش ایمونودیفیوژن ژل آگار در تعداد ۹ رأس (۲/۹۰ درصد) آلودگی سرمی مثبت گزارش گردید (١٤). مودّب در مطالعه‌ای، نمونه سرمی از ۹۵۱ رأس اسب به منظور بررسی عیار پادتنی علیه پنج سروار از لپتوسپیرا، بروسلا، توکسوپلاسما، کم‌خونی عفونی اسب، آنفلوانزای اسب، پاراآنفلوانزای تیپ ۳ و هرپس ویروس تیپ ۱ اخذ و در هیچ نمونه مورد متبت از کم‌خونی عفونی اسب گزارش نکرد (۱). استفاده از الایزا و ایمونودیفیوژن ژل آگار در مطالعات متعددی جهت بررسی آنتی‌بادی‌های سرمی ویروس کم‌خونی عفونی اسبان انجام گرفته است (۲ و ۱۷). Tatso و همکاران در مطالعه‌ای استفاده از دو روش فوق بر روی ٤٢٠ رأس اسب جهت جستجوی آنتی‌بادی‌های ویروس کم خونی عفونی اسبان را با هم مقایسه کرد و کارآیی هر دو روش را تأیید نمودند (١٦). Kono و همکاران در ژاپن با بررسی ۵۱۲ رأس اسب، آنتی‌بادی‌های نمونه سرمی این ویروس را با تست CF بررسی کرده و به این نتیجه رسیدند که ۳۲ نمونه از لحاظ سرولوژیک مثبت بودند که قابل توجه می‌باشد (۱۰ و ۱۱). در مطالعه انجام گرفته توسط kong و همکاران در ژاپن جهت جستجوی آنتی بادی‌های سرمی بر علیه پروتئین P26 این ویروس از دو تست الایزا و ایمنودیفوزیون ژل آگار (AGID) استفاده شد که کارآیی هر دو روش تأیید شده و حساسیت و ویژگی هر دو تست بالا گزارش شده است (۹). Ataseven و Arslan در کشور ترکیه آنتی بادی‌های سرمی ٦٣١ رأس تک‌سمی شامل ٦٩ رأس قاطر، ١٥٤ رأس الاغ و ٤٠٨ رأس اسب در ٦ منطقه جغرافیایی را با روش الایزا علیه ویروس کم‌خونی عفونی اسبان بررسی کرده و هیچ مورد مثبتی گزارش نکردند (۲). در تمام مناطق حشره وجود دارد و چون انتقال این بیماری با حشرات امکان-پذیر است، لذا احتمال آلودگی در بیشتر نقاط دنیا وجود دارد. بر اساس تست الایزا و ایمونودیفوژیون ژل آگار میزان آلودگی در آمریکا ۵/۲-۵/۱ درصد، کانادا ٦ درصد، آلمان ١٦-١ درصد و آرژانتین ۲۵-۱۵ درصد گزارش شده است (۸). نقش حشرات در انتقال این بیماری به اثبات رسیده است و با عنایت بر اینکه منطقه تبریز از نظر آب و هوایی منطقه سرد بوده و احتمال وجود حشرات کمتر می‌باشد، لذا عدم مثبت بودن تمام نمونه‌های سرمی می‌تواند قابل توجه باشد. در این تحقیق

www.SID.ir

Archive of SID

مشخص شد که میانگین OD در اسب‌های نر به طور غیرمعنی‌داری کمتر از اسب‌های ماده می‌باشد (به ترتیب ۰/۳۸۱±۰/۰۱٤ و ۰/۳۸۷±۰/۰۱۰) (p=۰/۳٥٦). در مطالعات انجام گرفته توسط سایر محققین نیز ارتباطی بین میزان آلودگی در جنس نر و ماده مشاهده نشده است (۲، ۱۱، ۱۲ و ۱٥). با عنایت به اینکه در منطقه تبریز از اسب‌های نر بیشتر جهت سواری استفاده می‌کنند و احتمال تماس اسب‌های نر نسبت به اسب‌های ماده با حشرات بیشتر می‌باشد، به نظر می‌رسد احتمال رخداد آلودگی در جنس نر بیشتر از جنس ماده باشد ولی در این مطالعه چنین نتیجه‌ای حاصل نشد.

در این مطالعه مشخص شد که در گروه سنی بالای ۹ سال میانگین OD بیشتر از سایر گروه‌های سنی می‌باشد ولی در مقایسه آماری اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌های سنی وجود نداشت و ارتباط معنی‌داری بین بالا یا پایین بودن سن با میزان تراکم‌پذیری بر علیه آنتی‌بادی‌های این ویروس وجود نداشت. در تحقیقات صورت گرفته توسط دیگران بر این موضوع کمتر اشاره شده است و تنها در مطالعه انجام گرفته توسط Ataseran و Arslan در ترکیه گزارش شده است که OD در اسب‌های زیر ۵ سال بیشتر از اسب‌های بالای ۵ سال می‌باشد (۲). با توجه به اینکه اسب‌های منطقه تبریز بیشتر جهت سواری نگه‌داری می‌شوند و اسب‌های جوانتر بیشتر از اسب‌های مسن جهت سواری به بیرون از اصطبل و گاهاً به جاهای گرمتر برده می‌شوند که احتمال وجود پشه بالاست، لذا به نظر می‌رسد که در این اسب‌ها احتمال آلودگی بالا باشد ولی این نتیجه حاصل نشد. JOHN و همکاران بر روی ۷۱ رأس اسب از PCR جهت شناسایی ویروس کم خونی عفونی اسبان و تست الایزا جهت جستجوی آنتی‌بادی‌های سرمی استفاده کردند و مشخص شد که هیچ مورد مثبتی وجود ندارد و در ۷ رأس اسب آلودگی تجربی ایجاد کردند و مشخص شد که PCR حتی در روزهای اول آلودگی این بیماری را شناسایی می‌کند در حالی‌که الایزا در روزهای اول قادر به شناسایی نبوده و PCR مفید می‌باشد (۷).

نتیجه نهایی اینکه آلودگی سرمی به ویروس کم‌خونی عفونی اسبان در منطقه تبریز در اسب‌های تحت بررسی وجود ندارد ولی نیاز به مطالعات جامع در این منطقه بر اساس روش PCR نیز وجود دارد تا آلودگی را به طور قطع مشخص نماید.

منابع

۱. مودّب، ح. ۱۳۸۹. بررسی فراوانی بروز یوه‌آیتیس دوره‌ای و عوامل همراه آن در اسب‌های نژادهای مختلف در باشگاه‌های پرورش و یا سوارکاری در اطراف تهران. پایان نامه جهت اخذ دکتری تخصصی بیماری‌های داخلی دام‌های بزرگ، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، پایان‌نامه شماره ٤٤٥٨٢، صفحات: ٦٩-٦٧.

2. Ataseven, H. and Arslan, V. 2006. Equine infectious anemia in mules, donkeys, and horses: Epidemiologic studies in the different geographic regions of Turkey. Journal of Equine Veterinary Science. 25(10):439-441.
3. Baccam, P., Thompson, R., Li, Y., Sparks, W.O., Belshan, M., Dorman, K.S., et al. 2003. Subpopulations of equine infectious anemia virus rev coexist in vivo and differ in phenotype. Journal of Virology. 77(22):12122-12131.
4. Burki, F., Rossmanith, W. and Rossmanith, E. 1992. Equine lentivirus: comparative studies on four serological tests for the diagnosis of equine infectious anaemia. Vet. Microbiol. 33:353-360.
5. Feng, L.I., Leroux, C., Craigo, J.K., Cook, S.J., Issel, C.J. and Montelaro, R.C. 2000. The S2 gene of equine infectious anemia virus is a highly conserved determinant of viral replication and virulence properties in experimentally infected ponies. Journal of Applied Virology. 74:573-579.
6. Issel, C.J. and Foil, L.D. 1984. Studies on equine infectious anemia virus transmission by insects. J. Am. Vet. Med. Assoc. 184:293-297.

www.SID.ir

Archive of SID

7. John, L.L., Sheilla J.C., Cook, R.F., Rush, K.E. 1996. Detection of equine infectious anemia viral RNA in plasma samples from recently infected and long- term in apparent carrier animals by PCR. Journal of Clinical Microbiology. 41:1481-1487.
8. Kong, X.G., Pang, H., Sugiura, T., Matsumoto, Y., Onodera, T. and Akashi, H., 1998. Evaluation of equine infectious anemia virus core proteins produced in a baculovirus expression system an Agar Gel Immunodiffusion Test and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. J. Vet. Med. Sci. 60:1361-1362.
9. Kong, X.G., Pang, H., Sugiura, T., Sentsui, H., Onodera, T., Matsumoto, Y., Akashi, H. 1997. Application of equine infectious anemia virus core proteins produced in a baculovirus expression system to serological diagnosis. Microbiol. Imunol. 41:975-980.
10. Kono, Y. 1987. Development of immunity after immunization and infection with avirulent, attenuated and virulent equine infectious anemia viruses. Proc. 3rd Int. Conf. Equine Infectious Diseases. p:242-254.
11. Kono, Y., Kobayashi, K. and Fukunage, Y. 1971. Serological comparison among various strains of equine infectious anemia virus. Archives of Virology. 34(3):202-208.
12. Lee, J.H., Murphy, S.C., Belshan, M., Sparks, W.O., Wannemuehler, Y., Liu, S., et al. 2006. Characterization of functional domains of equine infectious anemia virus rev suggests a bipartite RNA-binding domain. J. Virol. 80:3844-3852.
13. Maury, W., Thompson, R.J., Jones, Q., Bradley, S., Denke, T., Baccam, P. et al. 2005. Evolution of equine infectious anemia virus long terminal repeat during the alteration of cell tropism. Journal of Virology. 79:5653-5664.
14. Momtaz, H. and Nejat, S. 2010. Detection of proviral sequences of equine infectious anemia virus in peripheral blood cells of horses in iran. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. 13(1):18-22
15. Radostitis, O.M., Blood, D.C., Hinchliff, K.W. and Constable, P.D. 2007. Veterinary Medicine. Saunders, London, 10th Edition. p:1173-1177.
16. Tatsuo, M., Hesterberg, L.K., Porter, J.P., Smith B.J. and Newman, LE. 1989. Comparison of diagnostic tests for the detection of equine infectious anemia antibody. Vet Diagn Invest. 1:50-52.
17. Toma, B. 1980. Persistent negative serologic reaction in a mare infected with equine infectious anemia virus. Recl. Med. Vet. 156:55-63.

www.SID.ir