

## بررسی سرولوژیک بیماری استرانگلز در اسبان برخی از مناطق استان خوزستان به روش الایزا

امیرحسین محمدی<sup>۱</sup> مهدی پورمهدی بروجنی<sup>۲\*</sup> داریوش غریبی<sup>۳</sup> علیرضا قدردان مشهدی<sup>۴</sup>

۱) دانش آموخته دکتری حرفه‌ای، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲) گروه بهداشت و مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳) گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۴) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

(دریافت مقاله: ۱۸ خرداد ماه ۱۳۹۵، پذیرش نهایی: ۳۰ مرداد ماه ۱۳۹۵)

### چکیده

**زمینه مطالعه:** استرانگلز بوسیله استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی ایجاد می‌شود. باکتری بطور بارز قسمت فوقانی دستگاه تنفس و غدد لنفی سر و گردن تک‌سمیان را درگیر می‌کند. **هدف:** هدف از این مطالعه بررسی شیوع سرمی استرانگلز و رابطه آن با فاکتورهای سن و موقعیت جغرافیایی است. **روش کار:** در این تحقیق نمونه‌های سرمی از ۱۸۴ رأس اسب انتخاب شده به طور تصادفی از شهرهای اهواز، شوشتر، باغملک، شوش، آبادان، رامهرمز و دزفول جمع آوری گردید و بوسیله آزمایش الایزا مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین ۸۵ سواب بینی که بطور تصادفی از اسبان جمع آوری شد از نظر استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی بوسیله کشت باکتریایی ارزیابی گردید. **نتایج:** شیوع سرمی استرانگلز ۳۷/۵٪ (فاصله اطمینان ۹۵٪-۴۴/۵-۳۰/۵) بود. رگرسیون لاجستیک نشان داد شانس آلودگی بین سن بر حسب سال و آلودگی، ۱/۱ (فاصله اطمینان ۹۵٪-۱/۱۷-۱/۰۴) است ( $p < 0/001$ ) و با افزایش ۱ سال، شانس آلودگی ۱۰٪ افزایش می‌یابد. فراوانی نسبی آلودگی در اسبان نر و ماده ۳۲/۷۳٪ و ۳۹/۵۳٪ بود ( $p > 0/05$ ) و شانس آلودگی جنس ماده ۱/۳۴ برابر جنس نر (فاصله اطمینان ۹۵٪-۲/۶۱-۰/۶۹) است. شیوع در اسبان دارای سابقه بیماری تنفسی و بدون آن به ترتیب ۹۴/۱٪ و ۳۱/۷۴٪ بود ( $p < 0/001$ ). شانس آلودگی اسبان دارای سابقه بیماری تنفسی ۳۴/۴۲ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪-۲۶۶/۳۷-۴/۴۵) اسبان بدون سابقه بیماری تنفسی بود. شیوع در اهواز، شوشتر، باغملک، شوش، آبادان، رامهرمز و دزفول به ترتیب ۳۳/۳٪، ۳۴/۶۲٪، ۵/۲۶٪، ۶۹/۲۳٪، ۱۳/۰۴٪، ۲۲/۲۲٪، ۷۵٪ بود ( $p < 0/001$ ). بود. موقعیت جغرافیایی، ۲۹/۶٪ از نوسانات آلودگی را توجیه می‌نمود. استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی در کشت باکتریایی سواب‌های بینی جدا شد. **نتیجه‌گیری نهایی:** مطالعه حاضر نشان داد که شیوع سرمی استرانگلز در استان خوزستان بالا است و باید اقدامات کنترلی و پیشگیرانه مدنظر سیاست‌گذاران بهداشتی قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** اسب، اپیدمیولوژی، استرانگلز، استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی

### مقدمه

و علائم بیماری شامل شروع ناگهانی تب، بی‌اشتهایی، افسردگی، التهاب مخاطات دستگاه تنفسی بخصوص در بخش فوقانی، سرفه، ترشح سروزی تا چرکی از بینی، عدم تمایل به بلع، کشیدن گردن به سمت جلو، متورم شدن عقده‌های لنفاوی تحت فکی و عقب حلقی و تشکیل آبسه است (۱۹، ۱۶، ۷). تشخیص بیماری بر اساس یافته‌های بالینی، جداسازی باکتری و روش‌های سرولوژی نظیر الایزا است. دلیل مسری بودن بیماری، اسب آلوده بلافاصله بایستی از سایرین جدا گردد و سریعاً تحت درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها نظیر پنی‌سیلین، کلرآمفنیکل، اریترومیسین و تتراسیکلین قرار گیرد و به منظور پیشگیری و کنترل جداسازی اسب آلوده از سایرین، ضد عفونی محل نگهداری و وسایل اسب آلوده و واکسیناسیون اسب‌های سالم بایستی مدنظر قرار گیرد (۱۹، ۱۸، ۱۳). 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 می‌شود. این حیوان در اقتصاد ساکنین منطقه بطور مستقیم و غیر مستقیم تأثیر گذار می‌باشد و گام برداشتن در زمینه تعیین شیوع بیماری‌های این نژاد برای سیاست‌گذاران بهداشتی، دامپزشکان و اسب‌داران حائز اهمیت می‌باشد.

امروزه اسب و صنعت اسب‌داری در کشور ابزار و حرفه‌ای کاملاً اقتصادی تلقی می‌گردد و گردش وجوهی که در ورزش‌های مرتبط با اسب صورت می‌گیرد نسبت به سایر ورزش‌ها بی‌نظیر است و سرمایه‌گذاری در این حرفه روز به روز در حال افزایش می‌باشد. بدون تردید پرورش اسب بدون توجه به جنبه‌های مدیریت و بهداشتی این حیوان و شناسایی و پیشگیری از بیماری‌ها غیر منطقی است. از جمله بیماری‌های با اهمیت در صنعت دامپروری، بیماری‌های ناشی از عوامل عفونی مسری است که در صورت حضور در یک گله یا منطقه می‌توانند به آسانی گسترش یابند و خسارات اقتصادی جبران‌ناپذیری را به دامدار تحمیل نمایند. یکی از این بیماری‌ها استرانگلز یا گورم می‌باشد که عامل آن استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی است. این بیماری گسترش جهانی داشته و شدیداً مسری می‌باشد. انتقال عامل بیماری بصورت مستقیم و غیر مستقیم است. اسب‌ها در هر سنی ممکن است مبتلا شوند، اما حساسیت اسب‌های جوان بیشتر می‌باشد. دوره کمون بیماری ۳ تا ۸ روز و دوره بیماری ۳ تا ۴ هفته است



شدند و به مدت ۲۴-۴۸ h در داخل انکوباتور  $37^{\circ}\text{C}$  گرمخانه گذاری گردید. پس از رشد باکتری‌ها در محیط ژلوز خوندار پرگنه‌های مشکوک به استریتوکوکوس انتخاب و پس از رنگ آمیزی گرم مورفولوژی آن‌ها در زیر میکروسکوپ مشاهده گردید. روی نمونه‌های خالص سازی شده آزمایش کاتالاز و اکسیداز انجام شد. با مشاهده باکتری‌های کوکسی زنجیری گرم مثبت و کاتالاز منفی و اکسیداز منفی باکتری‌های مذکور در محیط‌های کشت تشخیصی مربوط به استریتوکوکوس‌ها کشت داده شدند و پس از رشد در محیط‌های مربوطه، نتایج کشت با جداول استاندارد مربوط مقایسه گردید. برای تمایز استریتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی از استریتوکوکوس اکوئی تحت گونه زواپیدمیکوس از تفاوت در تخمیر قندها نظیر قند لاکتوز و سوربیتول استفاده شد. در حالی که برای تمایز گونه‌های استافیلوکوکوس از محیط‌هایی نظیر مانیترول سالت آگار، بررسی همولیز یا عدم باکتری‌ها در محیط ژلوز خوندار، بررسی تولید آنزیم کوآگولاز، DNAase، اوره آز و تخمیر قندهای مانیترول و مالتوز استفاده گردید (۱۷). داده‌های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ به طور توصیفی و تحلیلی بررسی شدند. به منظور تحلیل داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف، آزمون مربع کای، رگرسیون لاجستیک و آزمون مان ویتنی استفاده گردید.  $\alpha=0/05$  به عنوان سطح معنی دار آماری مد نظر قرار گرفت.

## نتایج

میانگین و انحراف معیار S/P نمونه‌های سرمی به ترتیب  $0/87/99$  و  $0/52/28$ ٪ و میانگین و انحراف معیار دانسیته نوری  $1/11$  و  $0/59$  بود. در نمودار ۱ توزیع فراوانی مقادیر S/P و فراوانی موارد منفی و مثبت ارائه گردیده است. آزمون کولموگروف اسمیرنوف نشان داد که توزیع مشاهدات مربوط به S/P متقارن نمی‌باشد ( $p < 0/01$ ).

شیوع سرمی بیماری گورم در اسبان تحت بررسی به طور کلی  $0/37/5$  (فاصله اطمینان  $0/95$ ٪- $0/34/5$ ٪) بود. 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. میانگین و خطای معیار سن اسبان سرم مثبت و منفی به ترتیب  $7/99 \pm 0/83$  و  $5/01 \pm 0/4$  سال بود که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری داشتند ( $p < 0/001$ ). رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد که شانس آلودگی بین سن برحسب سال و بیماری  $1/1$  (فاصله اطمینان  $0/95$ ٪- $1/04$ ) است ( $p < 0/001$ ) و با افزایش ۱ سال شانس آلودگی  $10$ ٪ افزایش می‌یابد و سن  $0/87$ ٪ از تغییرات بیماری را توجیه می‌کند.

در جدول ۲ توزیع فراوانی موارد سرمی منفی و مثبت به تفکیک جنس ارائه گردیده است. بررسی این جدول نشان می‌دهد که فراوانی نسبی موارد مثبت در جنس نر و ماده به ترتیب  $0/32/73$ ٪ و  $0/39/53$ ٪ است که این اختلاف

بنابراین در مطالعه حاضر شیوع سرمی استریتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی در اسبان برخی از مناطق خوزستان و فاکتورهای تأثیر گذار مورد بررسی قرار گرفت تا بار بیماری بر جمعیت مشخص شود و اطلاعات لازم برای سیاست گذاران بهداشتی و تحقیقات بعدی فراهم شود.

## مواد و روش کار

در این تحقیق نمونه خون  $184$  رأس اسب در فاصله زمانی آبان ماه  $1392$  تا اردیبهشت ماه  $1393$  جهت بررسی حضور آنتی‌بادی علیه پروتئین M استریتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی با رضایت صاحب حیوان، جمع آوری شد. در این اسبان سابقه واکسیناسیون علیه این عامل وجود نداشت. با استفاده از یک پرسشنامه مشخصات اسب‌ها شامل سن، جنس، سابقه وجود بیماری تنفسی و شهر نگهداری جمع آوری شد. نمونه‌های خون مربوط به شهرهای شوش  $26$  نمونه ( $14/1$ ٪)، دزفول  $24$  نمونه ( $13$ ٪)، اهواز  $48$  نمونه ( $26/1$ ٪)، شوشتر  $26$  نمونه ( $14/1$ ٪)، باغملک  $19$  نمونه ( $10/3$ ٪)، رامهرمز  $18$  نمونه ( $9/8$ ٪) و آبادان  $23$  نمونه ( $12/5$ ٪) بود.  $129$  نمونه خون ( $70/1$ ٪) مربوط به مادبان و مابقی مربوط به نریان ( $55$  نمونه و  $29/9$ ٪) بود. میانگین و انحراف معیار سن اسب‌های تحت بررسی به ترتیب  $6/1$  و  $5/6$  سال بود. کیت الایزای استفاده شده در این تحقیق ساخت شرکت ID VET فرانسه (ID Screen® Streptococcus equi Indirect) بود. این کیت بر اساس الایزای غیر مستقیم طراحی شده و در آن به عنوان آنتی‌ژن، از پروتئین M استریتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی استفاده شده است. این کیت قادر به شناسایی آنتی‌بادی‌های تولیدی علیه پروتئین M استریتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی در سرم اسب می‌باشد. مراحل آزمایش الایزا طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گردید و میزان جذب نوری کنترل‌های مثبت و منفی و نمونه‌های سرمی مورد آزمایش در طول موج  $450 \text{ Nm}$  توسط دستگاه قرائت کننده الایزا قرائت و ثبت گردید.

طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت، اگر مقدار متوسط جذب نوری کنترل مثبت (ODPC) بیشتر از  $0/350$  و نسبت مقدار متوسط جذب نوری کنترل مثبت و کنترل منفی (ODNC) بیشتر از  $3$  باشد نشان دهنده صحت انجام الایزا است که در این صورت برای هر نمونه درصد S/P مطابق فرمول زیر محاسبه و بر اساس درصد S/P تفسیر نتایج صورت گرفت. نمونه‌هایی که S/P آن‌ها کمتر از  $100$ ٪ بود از نظر آلودگی منفی و نمونه‌هایی که S/P آن‌ها مساوی یا بیشتر از  $100$ ٪ بود، از نظر آلودگی مثبت تلقی گردید

$$S/p = \text{OD sample} / \text{OD positive control} \times 100$$

در این تحقیق از  $85$  رأس اسب، سوآب بینی جهت جداسازی احتمالی باکتری استریتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی گرفته شد. نمونه سوآب بینی به شکل استریل تهیه و به لوله استریل منتقل شد. نمونه‌ها در اسرع وقت و در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل و روی محیط بلاداگار کشت داده



که فراوانی نسبی موارد مثبت در اسبان با و بدون سابقه بیماری تنفسی به ترتیب ۹۴/۱ و ۳۱/۷۴٪ است که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0/001$ ). رگرسیون لجستیک تک متغیره نشان داد که شانس آلودگی اسبان دارای سابقه بیماری تنفسی ۳۴/۴۲ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪ ۲۶۶/۳۷-۴/۴۵) اسبان بدون سابقه بیماری تنفسی است ( $p < 0/001$ ) و سابقه بیماری تنفسی ۱۸/۷٪ از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

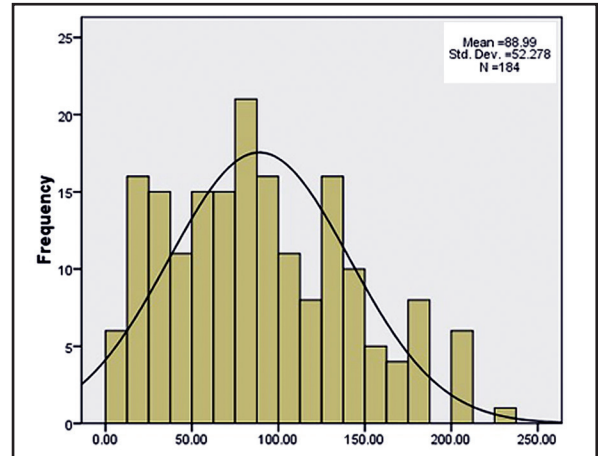
در جدول ۴ توزیع فراوانی موارد منفی و مثبت به تفکیک موقعیت جغرافیایی ارائه گردیده است. این جدول نشان می‌دهد کمترین و بیشترین موارد مثبت به ترتیب مربوط به باغملک و دزفول است. ارتباط بین موقعیت جغرافیایی و بیماری معنی‌دار بود ( $p < 0/001$ ) و اختلاف شوش با اهواز ( $p < 0/01$ )، باغملک ( $p < 0/001$ )، شوشتر ( $p < 0/05$ )، رامهرمز ( $p < 0/01$ ) و آبادان ( $p < 0/001$ )، دزفول با اهواز ( $p < 0/01$ )، باغملک ( $p < 0/001$ )، شوشتر ( $p < 0/01$ )، رامهرمز ( $p < 0/01$ ) و آبادان ( $p < 0/001$ ) معنی‌دار بود. رگرسیون لجستیک تک متغیره نشان داد که شانس آلودگی در دزفول نسبت به باغملک ۵۴ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪ ۴۹۴/۹۷-۵/۸۹)، شانس آلودگی در اهواز نسبت به باغملک ۹ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪ ۷۳/۵۸-۱/۱)، شانس آلودگی در شوشتر نسبت به باغملک ۹/۵۳ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪ ۸۳/۴۴-۱/۰۹)، شانس آلودگی در شوش نسبت به باغملک ۴۰/۵ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪ ۳۵۷/۹۵-۴/۵۸)، شانس آلودگی در رامهرمز نسبت به باغملک ۵/۱۴ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪ ۵۱/۲۹-۰/۵۲) و شانس آلودگی در آبادان نسبت به باغملک ۲/۷ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪ ۲۸/۳۴-۰/۲۶) بود و موقعیت جغرافیایی ۲۹/۶٪ از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

رگرسیون لجستیک چند متغیره نشان داد که سن، جنس، سابقه بیماری تنفسی و موقعیت جغرافیایی، ۴۲/۱٪ از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کنند و موقعیت جغرافیایی ( $p < 0/01$ )، سن ( $p < 0/001$ ) و سابقه بیماری تنفسی ( $p < 0/05$ ) روی آلودگی تأثیر معنی‌داری دارد (جدول ۵).

در بررسی سوابق‌های بینی در هیچ موردی، باکتری استرپتوکوکوس اکوتی تحت گونه اکوتی جدا نگردید. باکتری‌های دیگری که جداسازی و تعیین هویت گردیدند عمدتاً متعلق به جنس‌های استرپتوکوکوس و استافیلوکوکوس بودند که نتایج کشت و بررسی آن‌ها در جدول ۶ ارائه گردیده است.

### بحث

در تحقیق حاضر یکی از مهمترین، مسری‌ترین و رایج‌ترین بیماری‌های دستگاه تنفسی اسب مورد بررسی قرار گرفت بطوری که برخی اذعان دارند این بیماری را می‌توان جزء سه بیماری مهم و خطرناک دستگاه تنفسی اسب محسوب نمود (۵). بررسی متون نشان می‌دهد تاکنون مطالعه اپیدمیولوژیک روی این بیماری در جمعیت اسبان در کشور



نمودار ۱. توزیع فراوانی مقادیر S/P گورم در اسبان استان خوزستان.

جدول ۱. توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی مثبت و منفی گورم در اسبان استان خوزستان به تفکیک سن (سال).

دامنه سنی	فراوانی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
~۲	۳۹	۷۸	۱۱	۲۲	۵۰	۲۷/۱۷
۳-۱۰	۵۸	۶۷/۰۵	۳۷	۳۸/۹۵	۹۵	۲۸/۸
>۱۰	۱۸	۴۶/۱۵	۲۱	۵۳/۸۵	۳۹	۲۷/۲
جمع کل	۱۱۵	۶۲/۵	۶۹	۳۷/۵	۱۸۴	۱۰۰

جدول ۲. توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی منفی و مثبت گورم در اسبان استان خوزستان به تفکیک جنس.

جنس	فراوانی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
نریان	۳۷	۶۸/۲۷	۱۸	۳۲/۷۳	۵۵	۲۹/۹
مادیان	۷۸	۶۰/۴۷	۵۱	۳۹/۵۳	۱۲۹	۷۰/۱
جمع کل	۱۱۵	۶۲/۵	۶۹	۳۷/۵	۱۸۴	۱۰۰

جدول ۳. توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی منفی و مثبت گورم در اسبان استان خوزستان به تفکیک سابقه بیماری تنفسی.

سابقه بیماری تنفسی	فراوانی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
ندارد	۱۱۴	۶۸/۲۶	۵۳	۳۱/۷۴	۱۶۷	۹۰/۷۶
دارد	۱	۵/۹	۱۶	۹۴/۱	۱۷	۹/۲۴
جمع کل	۱۱۵	۶۲/۵	۶۹	۳۷/۵	۱۸۴	۱۰۰

از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد ( $p > 0/05$ ). رگرسیون لجستیک تک متغیره نشان داد که شانس آلودگی جنس ماده ۱/۳۴ برابر جنس نر (فاصله اطمینان ۹۵٪ ۲/۶۱-۰/۶۹) است ( $p > 0/05$ ) و جنس ۰/۶٪ از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

در جدول ۳ توزیع فراوانی موارد سرمی منفی و مثبت به تفکیک سابقه بیماری تنفسی ارائه گردیده است. بررسی این جدول نشان می‌دهد



بیماری، معطوف به گزارش یک همه‌گیری در کانون‌های نگهداری اسب در تهران، ردیابی استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی از طریق کشت در اسبان با علائم بیماری تنفسی فوقانی در مشهد و مقایسه اجزای سرم در اسب‌های مبتلا به استرانگلز و سالم در تبریز بوده است (۱۴، ۱۰، ۸۹، ۶). بررسی حاضر اولین بررسی اپیدمیولوژیک در کشور می‌باشد که ضمن تعیین شیوع سرمی و ردیابی باکتری استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی در کشت، فاکتورهای تأثیر گذار را نیز مورد ارزیابی قرار داده است. بررسی‌های اپیدمیولوژیک می‌تواند منجر به تعیین شیوع و فاکتورهای خطر بیماری در جمعیت شود و به عنوان یکی از پایه‌های بهداشت عمومی مطرح شوند. با مشخص شدن میزان شیوع بیماری، بار بیماری بر جمعیت برای مسئولین بهداشتی نمایان می‌گردد و امکانات و تجهیزات لازم جهت کنترل و پیشگیری مشخص می‌شود ضمناً اولویت‌های پژوهشی نیز در منطقه مشخص می‌گردد.

شیوع سرمی استرانگلز در بررسی حاضر ۳۷/۵٪ بود که قابل توجه می‌باشد. Noormohammadzadeh و همکاران در سال ۱۹۹۲ اولین گزارش بروز همه‌گیری استرانگلز را در اسب‌داری‌های تهران دادند و نشان دادند در برخی از اسب‌داری‌ها شیوع به ۸۰ تا ۱۰۰٪ می‌رسد (۱۴). بررسی سرولوژی ۳۰ رأس اسب بدون علائم بالینی استرانگلز نشان داد ۴ اسب دارای آنتی‌بادی علیه استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی هستند (۱۲). Davidson و همکاران در سال ۲۰۰۸ در بررسی ۷۹ رأس پونی که در معرض باکتری استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی قرار گرفته بودند نشان دادند که ۷۵ رأس در روش الایزای غیر مستقیم مثبت هستند (۴). بررسی ۱۷۹ دسته اسب طی سال‌های ۱۹۸۵ تا ۱۹۸۸ نشان داد که حداقل ۲۷/۴٪ از گله‌ها دچار اپیدمی استرانگلز شده‌اند و در ۶۲ فارم حداقل یک مورد از استرانگلز دیده می‌شود و میانگین بروز ۲/۱ در هر ۱۰۰ اسب سال است (۹).

در این تحقیق علی‌رغم شیوع سرمی نسبتاً بالا از هیچ‌کدام از سوآب‌های بینی تهیه شده، باکتری استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی در کشت جدا نشد که نشان می‌دهد باکتری احتمالاً تمایل به مزمن شدن دارد و در عقده‌های لنفی و ته کیسه‌های حلقی قرار می‌گیرد. Ijaz و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که جدا شدن استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی از نمونه‌های عقده‌های لنفی تحت فکی به طور چشمگیری از نمونه‌های ترشحات بینی اسب بیشتر است (۷). در پایشی که روی ۲۸۲۵ سوآب گرفته شده از بینی، ۹ ته کیسه حلقی و یک آسسه تحت فکی انجام گرفته است، تنها استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی در ۲ نمونه گرفته شده از ترشحات بینی و یک نمونه گرفته شده از آسسه تحت فکی در کشت و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز قابل ردیابی بود (۱۱). بررسی دیگری که در پونی انجام گرفته است نشان می‌دهد علی‌رغم اینکه شیوع سرمی ۹۴/۹٪ است، اما استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه

جدول ۴. توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی مثبت و منفی گورم در اسبان استان خوزستان به تفکیک موقعیت جغرافیایی.

موقعیت جغرافیایی	فراوانی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
شوش	۸	۳۰/۷۷	۱۸	۶۹/۲۳	۲۶	۱۴/۱
دزفول	۶	۲۵	۱۸	۷۵	۲۴	۱۳/۱
اهواز	۳۲	۶۶/۷	۱۶	۳۳/۳	۴۸	۲۶/۱
شوشتر	۱۷	۶۵/۳۸	۹	۳۴/۶۲	۲۶	۱۴/۱
باغملک	۱۸	۹۴/۷۴	۱	۵/۲۶	۱۹	۱۰/۳
رامهرمز	۱۴	۷۷/۷۸	۴	۲۲/۲۲	۱۸	۹/۸
آبادان	۲۰	۸۶/۹۶	۳	۱۳/۰۴	۲۳	۱۲/۵
جمع کل	۱۱۵	۶۲/۵	۶۹	۳۷/۵	۱۸۴	۱۰۰

جدول ۵. مقادیر نسبت شانسی فاکتورهای میزبانی و محیط.

فاکتور	نسبت شانسی	فاصله اطمینان ۹۵٪
سن	۱/۱۴	۱/۰۶-۱/۲۲
جنس	-	-
نر	-	-
ماده	۱/۶۱	۰/۶۹-۳/۷۳
سابقه بیماری تنفسی	-	-
ندارد	-	-
دارد	۱۵/۹۶	۱/۸۱-۱۴/۸۷
موقعیت جغرافیایی	-	-
باغملک	-	-
دزفول	۳۲/۲۹	۳/۱۹-۳۲۷/۰۶
اهواز	۷/۹۴	۰/۹۴-۶۷/۲۲
شوشتر	۱۷/۷۵	۱/۲۹-۱۰۷/۳۵
شوش	۲۴/۱۱	۲/۵۴-۲۲۸/۶۶
رامهرمز	۳/۲۶	۰/۲۹-۳۶/۴۴
آبادان	۲/۷	۰/۲۵-۲۹/۴

جدول ۶. نتایج کشت میکروبی سوآب بینی اسبان در استان خوزستان.

فراوانی مطلق و نسبی	نوع باکتری
۱ (۲/۴٪)	<i>Staphylococcus aureus</i>
۴ (۹/۸٪)	<i>Staphylococcus equorum</i>
۴ (۹/۸٪)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
۵ (۱۲/۲٪)	<i>Staphylococcus lentus</i>
۱ (۰/۵۵٪)	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
۱۷ (۴۷/۵٪)	<i>Staphylococcus spp.</i>
۲ (۴/۹٪)	<i>Streptococcus equinus</i>
۱ (۲/۴٪)	<i>Streptococcus equi subsp. zoepidemicus</i>
۴ (۹/۸٪)	<i>Streptococcus spp.</i>
۱ (۲/۴٪)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
۱ (۲/۴٪)	<i>Streptococcus suis</i>

علی‌رغم اهمیت بیماری صورت نگرفته است و مطالعات معدود روی این



نمودند و نشان دادند سن، نژاد و وضعیت واکسیناسیون با تیتراژ ارتباط معنی‌داری دارد. بطوری که شانس بین داشتن تیتراژ بالاتر از ۱:۱۶۰۰ و سن ۱/۰۷ است که تقریباً شبیه به بررسی حاضر می‌باشد. شانس داشتن تیتراژ ۱:۱۶۰۰ در اسب‌های کوارتر و اسب‌های نژاد دیگر ۴/۰۸ برابر اسب‌های تروبرد و خون‌گرم بود. در اسب‌هایی که سابقه استفاده از واکسن تخفیف حدت یافته استرپتوکوکوس اکوئی به صورت داخل بینی را یک تا سه سال قبل داشتند، شانس داشتن تیتراژ ۱:۱۶۰۰، ۴/۷ برابر اسب‌های بدون این سابقه بود (۳).

این بررسی نشان داد که ارتباطی بین جنس و آلودگی وجود ندارد هرچند شانس آلودگی در مادیان بطور غیر معنی‌داری بیشتر از نریان بود. بررسی حاضر نشان داد که شانس آلودگی اسبان دارای سابقه بیماری تنفسی بسیار بالاتر از اسبان بدون این سابقه است و در رگرسیون لاجستیک چند متغیره نیز بعد از کنترل نقش سایر عوامل، نقش آن بر آلودگی معنی‌دار بود و بنابراین استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی را می‌توان به عنوان یکی از عوامل مسبب بیماری تنفسی اسبان در این منطقه دانست.

این بررسی نشان داد ارتباط بین منطقه جغرافیایی و آلودگی معنی‌دار است و منطقه جغرافیایی به عنوان یک فاکتور خطر برای آلودگی مطرح است. تفاوت مشاهده شده بین نواحی مختلف را می‌توان به مدیریت، تراکم جمعیت و وضعیت آب و هوایی متفاوت در مناطق تحت بررسی نسبت داد. همسو با تحقیق حاضر Jorm در سال ۱۹۹۱ نشان داد که خطر ابتلا به استرانگلز با افزایش جمعیت فارم بالا می‌رود و نوع غذاخوری، منبع آب و حصار نیز برافزایش شیوع تأثیر دارد (۹).

بررسی اپیدمیولوژیک حاضر نشان داد که شیوع سرمی استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی در اسبان منطقه نسبتاً قابل توجه می‌باشد و سن، سابقه بیماری تنفسی و منطقه جغرافیایی بر آلودگی تأثیر معنی‌داری دارند و لذا توصیه می‌شود سیاستگذاران بهداشتی در جهت کنترل این بیماری اقداماتی نظیر واکسیناسیون و قرنطینه را مد نظر داشته باشند.

### تشکر و قدردانی

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

### References

- Al-Ghamdi, G.M. (2008) Determination prevalence of strangles in Saudi Arabia. Res J Biol Sci. 3: 1137-1139.
- Anzai, T., Nakanishi, A., Wada, R., Higuchi, T., Hagiwara, S., Takazawa, M., Oobayashi, K., Inoue, T. (1997) Isolation of *Streptococcus equi* subsp. *equi* from Thoroughbred horses in a race-

اکوئی تنها در یک مورد در شستشوی ته کیسه‌های حلقی جدا گردید (۴). Noormohammadzadeh و همکاران در سال ۱۹۹۲ در سوآب بینی از ۱۳ اسب مشکوک به استرانگلز در اسب‌داری‌های اطراف تهران موفق به ردیابی استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی در کشت در تمام نمونه‌ها به جزء دو مورد شدند (۱۴). Jannatabadi و همکاران در سال ۲۰۰۸ وجود استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی را در ۳۰ رأس اسب دارای علائم بیماری تنفسی فوقانی در مشهد بررسی نمودند و در کشت باکتریایی سوآب بینی یک مورد استرپتوکوکوس اکوئی و ۲۵ مورد استرپتوکوکوس زوایدیمیکوس جدا نمودند (۸). در بررسی آسسه غده لنفی تحت فکی ۱۵ اسب مشکوک به استرانگلز به روش کشت در ژاپن، در ۷ مورد استرپتوکوکوس بتا-همولیتیک جدا گردید که دو مورد مربوط به استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی و مابقی مربوط به استرپتوکوکوس زوایدیمیکوس بود (۲). Al-Ghamadi در سال ۲۰۰۸، ۹۲۶ رأس اسب را در ۷۵ مزرعه از طریق بالینی معاینه نمود و از ۳۵ رأس اسب انتخاب شده که از نظر بالینی دارای علائم تنفسی بودند موفق به جدا سازی استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی در کشت باکتریایی نگردید که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱). بررسی ۱۹۴ سوآب بینی و ۵۶ نمونه از عقده لنفی تحت فکی در لاهور و پنجاب پاکستان به روش کشت میکروبی نشان داد که ۱۱۳ رأس اسب (۴۵/۲٪) از نظر استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی مثبت هستند (۷). بررسی ۱۶۸ رأس اسب دارای علائم و بدون علائم گورم به روش PCR در نیوزلند نشان داد، ۳۵ نمونه مثبت هستند که ۳۲ نمونه مربوط به اسبان دارای علائم بالینی و ۳ نمونه مربوط به اسبان بدون علائم بالینی بود همچنین در کشت سوآب ۳۵ نمونه تهیه شده از ته کیسه‌های حلقی فقط در ۲۲ مورد باکتری استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی جدا گردید (۱۶). در بررسی ۱۸۵۲ رأس اسب در بوسنی و هرزگوین، ۱۱۸ رأس مبتلا به استرانگلز بودند که ۹ رأس از آن‌ها دچار آسسه غدد لنفی مزاتر بودند (۲۰).

بررسی حاضر نشان داد که ارتباط مستقیم بین تیتراژ سرمی علیه استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی و سن اسب وجود دارد و با افزایش یک سال به سن، شانس آلودگی ۱۰٪ (۴ تا ۱۷٪) افزایش می‌یابد. این افزایش شانس آلودگی امری بدیهی می‌باشد زیرا با افزایش سن، شانس مواجهه با استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی در طول زمان نیز بالا می‌رود البته شدت علائم در جوانترها بیشتر می‌باشد. Ijaz و همکاران در سال ۲۰۱۲ در بررسی خود بیان می‌دارند اسب‌های زیر ۲ سال نسبت به اسب‌های بالای ۲ سال به طور معنی‌داری نسبت به باکتری حساس‌تر هستند (۷) و Noormohammadzadeh و همکاران در سال ۱۹۹۲ نیز شدت علائم در جوان‌ترها را بیشتر گزارش کردند (۱۴). همسو با بررسی حاضر Boyle و همکاران در سال ۲۰۰۹ فاکتورهای مرتبط با تیتراژ بزرگتر-مسالوی ۱:۱۶۰۰ به روش الایزا را در ۱۸۸ رأس اسب به ظاهر سالم بررسی





- horse breeding area of Japan. J Vet Med Sci. 59: 1031-1033.
3. Boyle, A. G., Sweeney, C. R., Kristula, M., Boston, R., Smith, G. (2009) Factors associated with likelihood of horses having a high serum *Streptococcus equi* SeM-specific antibody titer. J Am Vet Med Assoc. 235: 973-977.
  4. Davidson, A., Traub-Dargatz, J.L., Magnuson, R., Hill, A., Irwin, V., Newton, R., Waller, A., Smith, K., Callan, R.J., Meehan, M., Owen, P., Salman, M. (2008) Lack of correlation between antibody titers to fibrinogen-binding protein of *Streptococcus equi* and persistent carriers of strangles. J Vet Diagn Invest. 20: 457-462.
  5. Harrington, D.J., Sutcliffe, I.C., Chanter, N. (2002) The molecular basis of *Streptococcus equi* infection and disease. Microbes Infect. 4: 501-510.
  6. Hassanpour, A. (2014) A study on the sermic levels of cardiac troponin and some enzymes in horses with strangles. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences. 4: 7-9.
  7. Ijaz, M., Khan, M.S., Dourani, A.Z., Saleem, M.H., Chaudhry, A.S., Ali, M.M., Mehmood, K., Shahzad, W. (2012) Prevalence and haemato-biochemical studies of strangles (*Streptococcus equi*) affected horses in Pakistan. J Anim Plant Sci. 22: 295-299.
  8. Jannatabadi, A.A., Mohammadi, G.R., Rad, M., Maleki, M. (2008) Molecular identification of *Streptococcus equi* subsp. *equi* and *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus* in nasal swabs samples from horse suffering respiratory infections in Iran. Pak J Biol Sci. 11: 468-471.
  9. Jorm, L.R. (1991) Strangles in horse studs: incidence, risk factors and effect of vaccination. Aust Vet J. 67: 436-439.
  10. Kazemi Asl, S.A., Hassanpour, A., Amoughli Tabrizi, B. (2013) Comparative assessment the serum values of Iron, phosphorous and cobalt in both healthy and horses with strangles. Euro J Exp Bio. 3: 513-518.
  11. Khoo, L.L., Maswati, M.A., Roseliza, R., Rosnah, Y., Saifu Nazari, R., Ramlan, M. (2011) Isolation of *streptococcus equi* during strangles surveillance in peninsular Malaysia. Malays J Vet Res. 2: 27-32.
  12. Knowles, E.J., Mair, T.S., Butcher, N., Waller, A.S., Wood, J.L. (2010) Use of a novel serological test for exposure to *Streptococcus equi* subspecies *equi* in hospitalised horses. Vet Rec. 166: 294-297.
  13. Nara, P.L., Krakowka, S., Powers, T.E., Garg, R.C. (1983) Experimentally *Streptococcus equi* infection in the horses: Correlation with in vivo and in vitro immune responses. Am J Vet Res. 44: 529-534.
  14. Noormohamadzadeh, F., Abdollahpour, F.G., Khajeh-Nasiri, S.M. (1992) Epizootiological investigation of strangles in the equine stables in Tehran. J Equ Vet Sci. 12: 401-402.
  15. Patty, O.A., Cursons, R.T. (2014) The molecular identification of *Streptococcus equi* subsp. *equi* strains isolated within New Zealand. N Z Vet J. 62: 63-67
  16. Piche, C.A. (1984) Clinical Observations on an Outbreak of Strangles. Can Vet J. 25: 7-11.
  17. Stewart, G.C. (2013) Streptococcus and Enterococcus. In: Veterinary Microbiology. Vol 1. McVey, D.S., Kenedy, M., Chengappa, M.M. (eds.). (3<sup>rd</sup> ed.) Wiley-Blackwell published, Oxford. p. 194-203.
  18. Sweeney, C.R., Benson, C.E., Whitlock, R.H., Meirs, D.A., Barningham, S.O., Whitehead, S.C., Cohen, D. (1989) Description of an epizootic and persistence of *Streptococcus equi* infection in horses. J Vet Med Assoc. 194: 1281-1286.
  19. Sweeney, C.R., Timoney, J.F., Newton, J.R., Hines, M.T. (2005) *Streptococcus equi* infections in horses: guidelines for treatment, control, and prevention of strangles. J Vet Internal Med. 19: 123-134.
  20. Vukovic, V. (1961) Strangles in Sarajevo during 1952-1959. Veterinaria (Sarajevo). 10: 125-128.



## A serological survey on strangles disease in horses of some areas in Khuzestan province by ELISA

Mohammadi, A.<sup>1</sup>, Pourmahdi Borujeni, M.<sup>2\*</sup>, Gharibi, D.<sup>3</sup>, Ghadrddan Mashhadi, A.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

<sup>2</sup>Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

<sup>3</sup>Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

<sup>4</sup>Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

(Received 7 June 2016, Accepted 20 August 2016)

### Abstract:

**BACKGROUND:** Strangles is caused by *Streptococcus equi* subspecies *equi*. The bacteria typically infect the upper respiratory system and lymph nodes of the head and neck in equidae. **OBJECTIVES:** The aim of this study was to evaluate the prevalence of strangles and association of this infection with host age and geographical determinants in horses in Khuzestan province. **METHODS:** Serum samples from 184 horses were randomly collected in Ahvaz, Shoushtar, Baghmalek, Shoush, Abadan, Ramhormoz and Dezfool cities and were examined by ELISA assay. Also, 85 swab samples were randomly taken from nasal swab of horse and evaluated for *Streptococcus equi* subspecies *equi* by bacterial culture. **RESULTS:** Seroprevalence rate of strangle was 37.5% (95% CI: 30.5-44.5%). Logistic regression showed that the odds of infection between the age based on year and disease was 1.1 (95% CI: 1.04-1.17) ( $p < 0.001$ ), and with increase of 1 year-old, odds of infection increase 10%. Relative frequency of infection in male and female horses was 32.73 and 39.53%, respectively ( $p > 0.05$ ) and odds of infection in female compared with male horses was 1.34 (95% CI: 0.69-2.61). Prevalence rate in horses with and without history of respiratory disease was 94.1% and 31.74%, respectively ( $p < 0.001$ ). The odds of infection in horses with history of respiratory disease compared with healthy horses was 34.42 (95% CI: 4.45-266.37). Prevalence rate in Ahvaz, Shoushtar, Baghmalek, Shoush, Abadan, Ramhormoz and Dezfool was 33.3%, 34.62%, 5.26%, 69.23%, 13.04, 22.22% and 75%, respectively ( $p < 0.001$ ). Geographical location explained 29.6% of infection's fluctuations. No isolate of *Streptococcus equi* subsp. *equi* was obtained in culture of nasal swab samples. **CONCLUSIONS:** This study determined that seroprevalence of strangles should be deleted in khuzestan province is high and Prevention and control measurements should be considered by health authorities.

**Keyword:** horse, epidemiology, strangles, *Streptococcus equi* Subsp. *equi*

### Figure Legends and Table Captions

**Graph 1.** Frequency distribution of s/p values for strangles in horses of Khuzestan province.

**Table 1.** Absolute and relative frequency of positive and negative serums for strangles in horses of Khuzestan province based on age.

**Table 2.** Absolute and relative frequency of positive and negative serums for strangles in horses of Khuzestan province based on sex.

**Table 3.** Absolute and relative frequency of positive and negative serums for strangles in horses of Khuzestan province based on historical respiratory disease.

**Table 4.** Absolute and relative frequency of positive and negative serums for strangles in horses of Khuzestan province based on geographical region.

**Table 5.** Odds ratio of host and environmental determinants.

**Table 6.** Result of bacterial culture from nasal swabs in horses of Khuzestan province.



\*Corresponding author's email: pourmahdim@scu.ac.ir, Tel: 061-33330073, Fax: 061-33360807

J. Vet. Res. 71, 4, 2016