

## بررسی سرمی آلودگی با هرپس ویروس ۱ و ۴ اسبی در استان چهارمحال و بختیاری به روش الایزا

• حسن ممتاز، گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

• فرهید همت زاده، گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: خرداد ماه ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: شهریور ماه ۱۳۸۲

### چکیده

با توجه به پیشرفت قابل توجه صنعت اسب داری و پرورش اسب در چند ساله اخیر در استان چهارمحال و بختیاری و نیز مشاهده مواردی از عفونت های بالینی تنفسی در اسب های منطقه، این مطالعه با هدف تعیین فراوانی آلودگی سرمی در اسب ها با هرپس ویروس ۱ و ۴ اسبی در یک دوره ۶ ماهه از تابستان تا زمستان ۱۳۸۱ روی ۱۷۴ نمونه سرمی اخذ شده از اسب های استان چهارمحال و بختیاری انجام گرفت. متعاقب انجام آزمون الایزا غیر مستقیم، ۳۹۰/۸ درصد از اسب های از نظر آلودگی با EHV-۱ و ۹۶/۶۸ درصد از آنها از نظر آلودگی با EHV-۴ واکنش مثبت نشان دادند. فراوانی آلودگی با EHV-۱ در فصل تابستان ۴۱/۱۷ درصد و در فصل پائیز ۳۳/۳۳ درصد برآورد گردید. ۵۹/۸۰ درصد از نمونه ها در فصل تابستان و ۸۱/۹۴ درصد از آنها در فصل پائیز از نظر آلودگی با EHV-۴ مثبت بودند. در اسب های نر، فراوانی آلودگی با EHV-۱ برابر ۱۵/۳۸ و با EHV-۴ برابر ۱/۷۶ درصد تعیین گردید. ۴۰/۹۹ درصد از اسب های ماده از نظر EHV-۱ و ۷۲/۰۴ درصد از آنها از نظر EHV-۴ آلوده بودند. فراوانی آلودگی با EHV-۱ در جمعیت اسب های واجد سابقه مشکلات تنفسی برابر ۴۱/۷۹ و در جمعیت اسب های فاقد این سابقه ۳۷/۳۸ درصد برآورد گردید. ۷۶/۱۱ درصد از اسب های دارای سابقه عوارض تنفسی و ۶۴/۴۸ درصد از اسب های فاقد این سابقه از نظر آلودگی با EHV-۴ واکنش مثبت نشان دادند. در گروه های سنی مختلف، کمترین میزان آلودگی با EHV-۱ در گروه سنی زیر ۱ سال با ۲۷/۵۰ درصد و بیشترین مقدار آلودگی در گروه سنی ۵ سال و بالاتر با ۶۲/۵۰ درصد تعیین شد. از نظر آلودگی با EHV-۴، کمترین میزان آلودگی در گروه سنی زیر ۱ سال با ۶۲/۵۰ درصد و بیشترین مقدار در گروه سنی ۴ سال با ۷۴/۲۸ درصد برآورد گردید. در تجزیه و تحلیل آماری نتایج با آزمون های آماری مربع کای و دقیق فیشر، اختلاف آماری معنی داری بین فراوانی آلودگی با EHV-۱ و فصل، جنسیت دام و وجود مشکلات تنفسی در سابقه اسب ها وجود داشت اما هیچ گونه اختلاف آماری معنی داری بین فصل و جنسیت دام با فراوانی آلودگی با EHV-۴ مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: هرپس ویروس ۱ و ۴ اسب، الایزا غیر مستقیم، اسب، استان چهارمحال و بختیاری.

Pajouhesh & Sazandegi, No: 59 pp: 63-69

**A serological survey on equine herpes virus 1 and equine herpes virus 4 in the horse using ELISA.**

By: Momtaz H., Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahr-e-Kord Islamic Azad University.

Hemmatzadeh F., Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University.

This study was carried out to determine the rate of infection of horse with equine Herpes virus 1 and equine herpes virus 4 in during a 6 months from summer to the winter of the 2002. 174 serum samples were taken from different horses in Chaharmahal & Bakhtiary province of Iran. All of the samples were tested by indirect ELISA and we have determine 68 positive samples with EHV-1 (%39.08) and 120 positive samples due to EHV-4 (%68.96). The rate of infection with EHV-1 in summer %41.17 and in autumn %33.33 were determined. In summer season the infection rate with EHV-4 was %59.80 and in autumn was %81.94. In male horses the rate of infection with EHV-1 was %15.38, while the infection rate with EHV-4 was %30.76. In female horses the infection rate with EHV-1 was %40.99 and the rate of infection with EHV-4 was %72.04. The rate of infection of horses which they had respiratory problems in the past was %41.79 with EHV-1 and in the horses that did not have any record of respiratory disorders was %37.38. The infection rate with EHV-4 for the horses which had the record of respiratory problems was %76.11 and it was %64.48 for the horses

that did not have any respiratory disorders in the past. The horses less than one year old had %27.50 of infection with EHV-1. The horses that were five years old or more, the rate of infection with EHV-1 was %62.50. The infection rate with EHV-4 for the horses less than one year old was %62.50, but the horses which were four years old, the rate of infection with EHV-4 was %74.28. When Chi-square test and Fisher's exact test were done, factors like, season, sex and record of respiratory problems, caused a significant difference in the rate of infection with EHV-1, but these factors did not have any effect on the rate of infection with EHV-4.

Key Words: Equine Herpes Virus 1 and Equine Herpes Virus 4, Indirect ELISA, Horse, Chaharmahal & Bakhtiary Prownce.

## مقدمه

هرپس ویروس‌ها اجزای حساس بوده و در خارج از بدن زنده نمی‌مانند. خانواده بزرگ هرپس ویریده دارای چندین ویروس از مهم ترین اجرام بیماری‌زای انسان و حیوانات است که به لحاظ بالینی طیف وسیعی از بیماری‌ها را ایجاد می‌کنند. چهره بارز تمام عفونت‌های هرپس ویروسی حضور مادام‌العمر ویروس در بدن است که معمولاً به شکل نهفته<sup>۱</sup> دیده می‌شود. ویریون غشاء دار این ویروس‌ها قطری در حدود ۱۵۰ نانومتر دارد که واجد یک ملکول DNA زوج رشته‌ای خطی به اندازه ۲۳۸-۱۲۵ kbp می‌باشد (۵، ۶).

تورم بینی وریه اسب<sup>۲</sup> در اثر یک نوع آلفا هرپس ویروس به نام هرپس ویروس ۴ اسب (EHV-۴) ایجاد می‌شود. این ویروس موجب بیماری حاد قسمت فوقانی دستگاه تنفس در کره اسب‌های یکی دو ساله می‌گردد. EHV-۴ را از چند مورد سقط جنین در مادیان نیز جدا کرده‌اند (۵، ۶). هرپس ویروس ۱ اسب عامل سقط جنین همه‌گیر<sup>۳</sup>، مرگ و میر کره‌ها قبل از تولد، علائم تنفسی و گاهی نشانه‌های عصبی در اسب‌ها است. ویروس انتشار جهانی داشته و به سهولت از طریق استنشاق ترشحات بینی، بزاق و یا از طریق غذای آلوده گسترش می‌یابد (۱، ۲، ۱۱). سقط جنین ناشی از EHV-۱ در اسب بیشتر در ماه آخر آبستنی اتفاق می‌افتد ولی گاهی خیلی زود و حتی در ۴ ماه اول آبستنی حادث می‌شود. سقط جنین ناشی از این ویروس در اسب فاقد علائم بالینی مهمی است و معمولاً عارضه‌ای به دنبال ندارد. عفونت با EHV-۱ در مرحله قبل از تولد موجب بیماری عمومی کشنده‌ای می‌شود که مهمترین علامت آن اختلال تنفسی ناشی از ذات‌الریه بینابینی است (۶). به دنبال عفونت تجربی و یا طبیعی با EHV-۱ در اسب می‌توان ویروس را از اپی‌تلیوم بینی، حلق، نای و ریه، کلیه، تیروئید، ریه، ملتحمه، عقده

های لنفاوی تحت فکی و مغابنی و بیضه‌ها جدا نمود. ویروس همچنین از ریه، کبد، طحال، تیموس و غده فوق کلیه کره اسب‌هایی که مادرشان آلوده بوده، جدا شده است. در رنگ آمیزی مقاطع بافتی به روش ایمونوپراکسیداز و ایمونوفلورسانس، ویروس در سلول‌های اندوتلیال جفت، سیاهرگ نافی و عمده عروق جنینی وجود دارد (۴، ۷، ۱۱، ۸). Daly و Doyle سیستم PCR-ELISA رقابتی<sup>۴</sup> را با کلون کردن ژن گلیکوپروتئین B ویروس جهت شناسایی عفونت ویروسی طراحی کردند (۳).

آزمون الی‌زای مسدود کننده<sup>۵</sup> با استفاده از پادتن‌های تک‌بینایی<sup>۶</sup> در تشخیص پادتن‌های ضد EHV-۱ و EHV-۴ در اسب به کار رفته است. در یک مطالعه، همبستگی بالایی<sup>۷</sup> ( $r = 0.76$ ) بین عیار پادتنی تعیین شده در آزمون خنثی سازی سرم<sup>۷</sup> و الی‌زای مسدود کننده گزارش گردید (۱۰). Yasunaga و همکاران در ژاپن نشان دادند که آزمون الی‌زای در مقایسه با تست ثبوت عناصر مکمل<sup>۸</sup> نه تنها قادر به شناسایی پادتن‌های تولید شده علیه EHV-۱ و EHV-۴ در عفونت‌های طبیعی می‌باشد بلکه به طور اختصاصی می‌تواند پادتن‌های تولید شده علیه این ویروس را در اسب‌های واکنش‌دهنده<sup>۹</sup> تشخیص دهد (۱۲).

بررسی‌های چندانی در زمینه آلودگی با EHV-۱ و EHV-۴ در ایران صورت نگرفته است. نظریه پیشرفت قابل توجه اسب‌داری و پرورش اسب در استان چهارمحال و بختیاری به ویژه در مرکز استان (شهرکرد) و نیز مشاهده مواردی از عفونت‌های تنفسی در اسب‌های استان، این مطالعه با هدف تعیین فراوانی آلودگی سرمی اسب‌ها با EHV-۱ و EHV-۴ و بررسی تداخل عوامل مختلف در فراوانی آلودگی در یک دوره ۶ ماهه از تابستان تا زمستان ۱۳۸۱ در استان چهارمحال و بختیاری انجام گرفت.

## مواد و روش کار

شایع عوارض تنفسی در اسب می باشد، در این تحقیق نیز وجود ارتباط بین آلودگی سرمی اسب ها و وجود سابقه مشکلات تنفسی در آنها مورد مطالعه قرار گرفت. در جمعیت اسب های مورد مطالعه، ۶۷ رأس واجد سابقه مشکلات تنفسی و ۱۰۷ رأس فاقد آن بودند که فراوانی آلودگی سرمی با EHV-۱ و EHV-۴ در گروه اسب های واجد سابقه مشکلات تنفسی به ترتیب برابر ۴۱/۷۹ و ۷۶/۱۱ درصد برآورد گردید (جدول ۳).

نمونه های تهیه شده از اسب ها در این بررسی به ۵ گروه سنی تقسیم شد که در جدول ۴ نشان داده شده است. پس از انجام آزمون الایزا، فراوانی آلودگی سرمی اسب ها با EHV-۱ و EHV-۴ در گروه سنی زیر یک سال کمترین مقدار را به خود اختصاص داد. بیشترین میزان آلودگی با EHV-۱ در گروه سنی ۵ سال و بالاتر و با EHV-۴ در گروه سنی ۴ سال تعیین شد. نکته جالب توجه آن که به موازات افزایش سن اسب ها با افزایش میزان آلودگی آنها مواجه هستیم که این نکته در نمودارهای ۱ و ۲ نمایان شده است به طوری که شیب خط رگرسیون نیز حاکی از افزایش میزان آلودگی سرمی اسب ها با EHV-۱ و EHV-۴ به موازات افزایش سن اسب ها می باشد.

## بحث

عفونت های هرپس ویروسی از تمام قاره های جهان و اکثر کشورهای دنیا گزارش شده اند. به علت طبیعت خاص این گونه آلودگی ها و عفونت های نهفته ایجاد شده توسط ویروس عامل بیماری و عدم بروز علائم بالینی قابل توجه به هنگام حضور نهفته ویروس در بدن و پیچیدگی های تشخیص آزمایشگاهی، هیستوپاتولوژی و ایمونوهیستوشیمی این دسته از بیماری ها، عفونت های هرپس ویروسی از جمله آلودگی با هرپس ویروس ۱ و ۴ اسب گسترش بسیار وسیعی در کشور های مختلف پیدا کرده اند (۶، ۱۱).

در استان چهارمحال و بختیاری تا کنون بررسی جامعی در مورد مشخص کردن وضعیت آلودگی با EHV-۱ و EHV-۴ در اسب صورت نگرفته است. از آنجائی که صنعت اسب داری و پرورش اسب در این استان در چند ساله اخیر پیشرفت قابل توجهی داشته است و از طرفی مواردی از عفونت های تنفسی بالینی در اسب توسط دامپزشکان منطقه مشاهده شده است، به نظر می رسد آلودگی با این ویروس ها در استان از گسترش نسبتاً چشمگیری برخوردار باشد، بدین لحاظ این تحقیق با هدف تعیین فراوانی آلودگی سرمی اسب با EHV-۱ و EHV-۴ و بررسی تداخل متغیرهایی از قبیل سن، جنس و سابقه وجود مشکلات تنفسی در فراوانی آلودگی با ویروس در تابستان و پائیز سال ۱۳۸۱ در استان چهارمحال و بختیاری انجام گرفت.

همان گونه که در جدول ۱ نشان داده شده است ۳۹/۰۸ درصد از اسب ها از نظر آلودگی با EHV-۱ و ۶۸/۹۶ درصد از نمونه ها از نظر آلودگی با EHV-۴ واکنش مثبت در آزمون الایزا نشان دادند. در فوریه ۱۹۹۵ تحقیقی در ناحیه Valley Hunter روی ۲۲۹ نمونه سرمی اخذ شده از اسب ها در سنین مختلف انجام شد. در این مطالعه بیشتر از ۹۹ درصد مادبان ها و کره اسب ها واجد پادتن های ضد EHV-۴ در آزمون الایزا بودند ولی میزان آلودگی سرمی با EHV-۱ در مادبان ها ۲۶/۲۰ درصد و در کره اسب ها ۱۱/۴۰ درصد گزارش گردید (۵).

با توجه به اطلاعات موجود در جدول ۲ که میزان آلودگی در دو فصل تابستان و پائیز را نشان می دهد، فراوانی آلودگی اسب ها با EHV-۱ در فصل

نمونه های سرمی مورد استفاده در انجام این تحقیق در فاصله زمانی تابستان تا زمستان ۱۳۸۱ از ۱۷۴ اسب در سنین مختلف از اسب های مسن تر از ۶ ماه به طریقه خوشه ای تصادفی<sup>۱</sup> در استان چهارمحال و بختیاری تهیه شد. آزمایش نمونه های سرمی به روش الایزای غیر مستقیم<sup>۱</sup> با استفاده از کیت تجاری EHV-۱-Ab و EHV-۴-Ab تهیه شده توسط مؤسسه Svanovir سوئد انجام شد. کیت مزبور قادر به تفریق پادتن های اختصاصی تولید شده بر علیه EHV-۱ و EHV-۴ در سرم اسب های آلوده است.

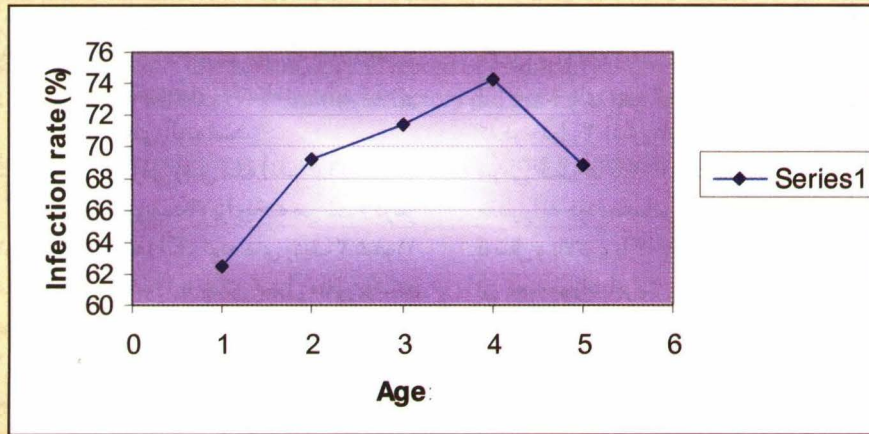
مطابق دستورالعمل کیت، نمونه های سرمی رقیق شده (نسبت ۱ به ۱۰۰ در بافر رقیق کننده نمونه<sup>۱</sup>) در گوده های میکروپلیت الایزا ریخته می شد. (در هر پلیت گوده های ردیف ۱، ۲، ۳ و ۴ با پادگن EHV-۱، گوده های ردیف ۵، ۶، ۷ و ۸ با پادگن EHV-۴ و گوده های ردیف ۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ با پادگن کنترل منفی پوشیده شده است). در صورت وجود پادتن در نمونه سرم به پادگن موجود در گوده ها متصل می گردد. پس از ۲ ساعت شیکر کردن پلیت در دمای ۲۵-۱۸ درجه سانتی گراد آزمایشگاه و ۴ نوبت شستشوی گوده های پلیت با PBS-Tween، پادتن کونژوگ شده با پراکسیداز (Ig-Horse Radish Peroxidase)، پادتن ضد اسب (Rabbit-anti Horse) به گوده ها اضافه و یک ساعت در دمای آزمایشگاه شیکر می شد. در صورت اتصال پادتن به پادگن، آنتی گلوبولین کونژوگه اتصال یافته و در اثر مجاورت با ترماتیل بنزیدین<sup>۱۲</sup> موجود در محلول سوستر رنگ آبی در گوده ها ایجاد می شد. در مرحله پایانی واکنش انجام شده در گوده های میکروپلیت در اثر اسید سولفوریک موجود در محلول توقف<sup>۱۳</sup> متوقف شده و نتایج در طول موج نوری ۴۵۰nm قرائت می گردید. به منظور قرائت نتایج حاصل از آزمون الایزا، از دستگاه ELISA Reader مدل Stat Fax ۲۱۰۰ حاصل از آزمایشگاه مرکزی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات حاصل از نتایج نیز با نرم افزار آماری InStat و آزمون های آماری مربع کای<sup>۱۴</sup> و آزمون دقیق فیشر<sup>۱۵</sup> انجام گرفت.

## نتایج

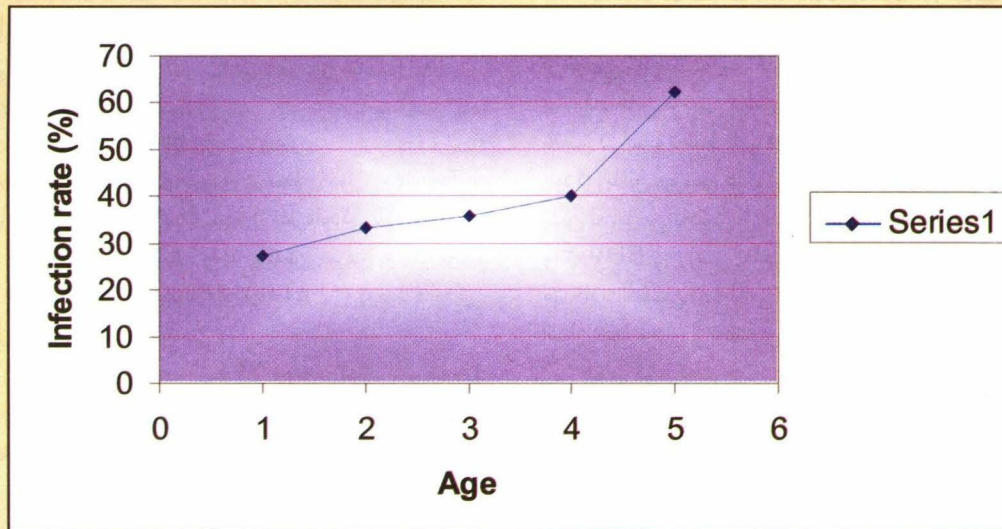
از بین ۱۷۴ نمونه سرمی اخذ شده از اسب ها در سطح استان چهارمحال و بختیاری پس از انجام آزمون الایزا، تعداد ۶۸ نمونه از نظر آلودگی با EHV-۱ و ۱۲۰ نمونه از نظر آلودگی با EHV-۴ واجد واکنش سرمی مثبت بودند (جدول ۱). از نمونه های مورد مطالعه تعداد ۶۸ نمونه (۳۹/۰۸ درصد) آلودگی توام با هر دو ویروس نشان دادند.

در کل استان، ۱۰۲ نمونه در فصل تابستان و ۷۲ نمونه در فصل پائیز تهیه و با آزمون الایزا آزمایش شد که نتایج به تفکیک در جدول ۲ نشان داده شده است. از ۱۷۴ نمونه تهیه شده در جمعیت مورد مطالعه، تعداد ۱۳ نمونه مربوط به اسب های نر و ۱۶۱ نمونه مربوط به اسب های ماده بود که پس از انجام آزمون الایزا، فراوانی آلودگی سرمی با EHV-۱ در جمعیت اسب های نر ۱۵/۳۸ درصد و در گروه اسب های ماده برابر ۴۰/۹۹ درصد تعیین شد. ۴ رأس (۳۰/۷۶ درصد) از اسب های نر و ۱۱۶ رأس (۷۲/۰۴ درصد) از اسب های ماده از نظر آلودگی با EHV-۴ واکنش سرمی مثبت نشان دادند.

از آنجائی که آلفا هرپس ویروس های ۱ و ۴ اسب به ویژه EHV-۴ از عوامل



(نمودار ۱) فراوانی آلودگی سرمی اسب ها با EHV-1 در گروه های سنی مختلف در استان چهارمحال و بختیاری



(نمودار ۲) فراوانی آلودگی سرمی اسب ها با EHV-4 در گروه های سنی مختلف در استان چهارمحال و بختیاری

جدول ۱- فراوانی آلودگی سرمی اسب ها با EHV-1 و EHV-4 در استان چهارمحال و بختیاری

تعداد و درصد EHV-4 <sup>+</sup>	تعداد و درصد EHV-1 <sup>+</sup>	تعداد نمونه
۱۲۰ ٪۶۸/۹۶	۶۸ ٪۳۹/۰۸	۱۷۴

جدول ۲ فراوانی آلودگی سرمی اسب ها با EHV-1 و EHV-4 در دو فصل تابستان و پائیز در استان چهارمحال و بختیاری

فصل	تعداد نمونه	تعداد و درصد EHV-1 <sup>+</sup>	تعداد و درصد EHV-4 <sup>+</sup>
تابستان	۱۰۲	۴۲ ٪۴۱/۱۷	۶۱ ٪۵۹/۸۰
پائیز	۷۲	۲۴ ٪۳۳/۳۳	۵۹ ٪۸۱/۹۴

داشت (۶، ۹).

از آنجائی که در بیماری های عفونی که به طور مستقیم منجر به مرگ و میر حیوانات نمی شوند، به موازات افزایش سن دام به دلیل افزایش احتمال برخورد با جرم بیماری زا احتمال رخداد آلودگی در بین حیوانات زیادت می شود، در این بررسی نیز به موازات افزایش سن اسب ها، فراوانی آلودگی با EHV-1 از ۲۷/۵۰ درصد در گروه سنی زیر یک سال تا ۶۲/۵۰ درصد در گروه سنی ۵ سال و بالاتر افزایش یافت. در مورد آلودگی با EHV-4 نیز کمترین میزان آلودگی در گروه سنی زیر یک سال با ۶۲/۵۰ درصد و بیشترین فراوانی آلودگی در گروه سنی ۴ سال با ۷۴/۲۸ درصد تعیین شد. تجزیه و تحلیل آماری با آزمون

Linear regration با  $r = ۰/۹۸۳۳$  ،  $Correlation\ Coefficient(r) = ۰/۹۶۷۰$  و  $Standard\ deviation = ۱۱/۵۸۴$  ،  $r\ squared = ۰/۹۶۷۰$

ارتباط خطی بین افزایش میزان آلودگی با EHV-1 و افزایش سن دام مشاهده شد که در نمودار ۱ وجود ارتباط خطی بین افزایش میزان آلودگی به موازات افزایش سن دام مشهود است. در مورد آلودگی اسب ها با EHV-4 ، آزمون آماری رگرسیون خطی با

$rsquared = ۰/۹۹۸۶$  ،  $Correlation\ Coefficient(r) = ۰/۹۹۹۳$

ارتباط خطی بین افزایش میزان آلودگی به موازات افزایش سن اسب ها بود که این نکته در نمودار ۲ به خوبی نشان داده شده است.

با توجه به جمیع شرایط ذکر شده و همچنین مد نظر قرار دادن این نکته که در بسیاری از گله های آلوده منشاء آلودگی می تواند اسب های مبتلا به شکل نهفته بیماری باشند و چنین اسب هایی در مواردی پاسخ منفی در آزمون های سرولوژی نشان می دهند، لذا یکی از مهم ترین عواملی که در بررسی های اپیدمیولوژی بیماری می بایستی مورد توجه قرار گیرد استفاده توأم از آزمون های سرولوژی ردیابی پادتن های سرمی و آزمون های ردیابی پادگن های ویروسی است که در همین جا توصیه می گردد جهت روشن شدن چهره واقعی اپیدمیولوژی عفونت های ناشی از EHV-1 و EHV-4 در منطقه از آزمون های ردیابی پادگن های ویروسی استفاده گردد (۳).

تابستان (۴۱/۱۸ درصد) بیشتر از فصل پائیز است. در مورد آلودگی با EHV-4 فراوانی آلودگی در فصل پائیز (۸۱/۹۴ درصد) بیشتر از فصل تابستان می باشد. در تجزیه و تحلیل آماری با آزمون مربع کای با  $P\ value = ۰/۳۷۲۶$  و  $X^2 = ۰/۷۹۴۸$  و اختلاف آماری معنی داری بین فراوانی آلودگی با EHV-1 در دو فصل مختلف وجود داشت در حالی که بین فراوانی آلودگی با EHV-4 در دو فصل تابستان و پائیز اختلاف آماری معنی داری مشاهده نشد (آزمون آماری مربع کای با  $P\ value = ۰/۰۰۳۳$  و  $X^2 = ۸/۶۶۰$ ).

فراوانی آلودگی با EHV-1 و EHV-4 در اسب های ماده با میزان ۴۰/۹۹ درصد در مورد EHV-1 و ۷۲/۰۴ درصد در مورد EHV-4 بیشتر از اسب های نر برآورد گردید. تجزیه و تحلیل آماری با آزمون آماری دقیق فیشر با  $P\ value = ۰/۰۰۳۸$  اختلاف آماری معنی داری را بین جنسیت دام و آلودگی آن با EHV-4 نشان نداد. وجود اختلاف آماری معنی دار بین فراوانی آلودگی اسب ها با EHV-1 و جنسیت آنها به واسطه شرکت بیشتر EHV-1 در سندروم تناسلی مرتبط با سقط جنین و لذا وفور زیادت آن در جنس ماده توجیه پذیر خواهد بود (۹، ۱۰).

همان گونه که در جدول ۳ نشان داده شده است، فراوانی آلودگی با EHV-1 و EHV-4 در اسب های واجد سابقه مشکلات تنفسی به ترتیب با ۴۱/۷۹ درصد و ۷۶/۱۱ درصد بیشتر از اسب ها فاقد سابقه می باشد. در تجزیه و تحلیل آماری با آزمون مربع کای با  $P\ value = ۰/۶۷۴۳$  و  $X^2 = ۰/۱۷۶۶$  اختلاف آماری معنی داری بین فراوانی آلودگی با EHV-1 و سابقه وجود مشکلات تنفسی در اسب ها مشاهده شد. همچنین تجزیه و تحلیل آماری با آزمون مربع کای با  $P\ value = ۰/۱۴۸۳$  و  $X^2 = ۲/۰۹۰$  نشانگر وجود اختلاف آماری معنی داری بین میزان آلودگی اسب ها با EHV-4 و وجود سابقه مشکلات تنفسی در اسب ها بود.

عمده راه ورود آلفا ویروس های ۴ و ۱ اسب از طریق دستگاه تنفس می باشد و حضور هریس ویروس چه به شکل اولیه و چه به شکل زمینه ساز سایر عفونت های تنفسی می تواند به بروز بالینی سندروم های تنفسی منجر شود که این پدیده در مورد عفونت با EHV-4 جلوه زیادتاری خواهد

## پاورقی‌ها

- ۱- Latend
- ۲- Equine Rhinopneumonia
- ۳- Abortion Storms
- ۴- Competitive polymerase chain Reaction-ELISA
- ۵- Blocking ELISA
- ۶- Monoclonal Antibody (mAb)
- ۷- Serum Neutralization
- ۸- Complement Fixation Test
- ۹- Cluster Random Sampling
- ۱۰- Indirect ELISA
- ۱۱- Sample dilution buffer
- ۱۲- Tetra methylbenzidine
- ۱۳- Stop solution
- ۱۴- Chi-Square
- ۱۵- Fisher's exact test

## منابع مورد استفاده

- 1) Allen ,G.P.and Bryans,J.T. ,1986.Molecular epizootiology,pathogenesis and prophylaxis of EHV-1 infections.Prog. Vet.Microbiol.Immunol.,2:78-144.
- 2)Crabb,B.and Studdert,M.J.,1995.EHV-4 (equine rhinopneumonia) and EHV-1 (equine abortion virus).Adv.Virus Res.,45:153-190
- 3) Daly,P.and Doyle,S.,2003.The development of a competitive PCR-ELISA for the detection of EHV-1.J.Virol.Methods,107(2):237-244.
- 4) Edington,N.,Bridges,C.G.and Patel,J.R.,1986.Endothelial cell infection and thrombosis in paralysis caused by EHV-1,equine stroke.Arch.Virol., 90:111-112.
- 5)Gilkerson,J.R.,Whalley,J.M.,Drummer,H.E.and Studdert ,M.J.,1999.Epidemiology of EHV-1,4 in the mare and foal populations on a Hunter Valley stud farm: Are mares the source of EHV-1 for unweaned foals.Vet.Microbiol.,68(1-2):27-34.
- 6) Murphy,F.A.,Gibbs,E.P.J.,Horzinek,M.C.and Studdert,M.J.,1999.Veterinary Virology.3rd edition,Academic press, San Diego,301-304,314-315 pp.
- 7) Smith,K.C.,Whitweu,K.E.,Mumford,J.A.and Gower,S.M.,1993.An immunohistological study of the uterus of mares following experimental infection by EHV-1.Equine Vet.J.,25:36-40.
- 8) Tearle,J.P.,Smith,K.C.,Boyle,M.S.and Binns,M.M.,1996.Replication of EHV-1 in the testes of epididymides of ponies and venereal shedding of infectious virus.J.Comp.Path.,115:385-397.
- 9) Van Maanen,C.,2002.Equine herpes virus 1,4 infections: An update.Vet.Q.,24(2):58-78.
- 10)Van Maanen,C.and Terapstra,C.,2000.Development and validation of a monoclonal antibody blocking ELISA for the detection of antibodies against both EHV-1,4.Vet.Microbiol.,71(1-2):37-51.
- 11) Walker,C.,Love,D.N.and Wholley,J.M.,1999.Comparison of the pathogenesis of acute EHV-1 infection in the horse and the mouse model: A review.Vet.Microbiol.,68:3-13.
- 12) Yasunaga,S.,Maeda,K.,Matsumura,T.and Kando,T.,2000.Application of a type-specific ELISA for EHV-1,4 to horse populations inoculated with inactivated EHV-1 vaccine.J.Vet.Med.Sci.,62(7):687-691.

جدول ۳ فراوانی آلودگی سرمی اسب‌ها با EHV-1<sup>+</sup> و EHV-4<sup>+</sup> در اسب‌های واجد سابقه مشکلات تنفسی در مقایسه با اسب‌های فاقد سابقه مشکلات تنفسی در استان چهارمحال و بختیاری

تعداد و درصد EHV-4 <sup>+</sup>	تعداد و درصد EHV-1 <sup>+</sup>	تعداد نمونه	سابقه مشکلات تنفسی
۵۱ ٪۷۶/۱۱	۲۸ ٪۴۱/۷۹	۶۷	دارند
۶۹ ٪۶۴/۴۸	۴۰ ٪۳۷/۳۸	۱۰۷	ندارند

جدول ۴ فراوانی آلودگی سرمی اسب‌ها با EHV-1<sup>+</sup> و EHV-4<sup>+</sup> در گروه‌های سنی مختلف در استان چهارمحال و بختیاری

تعداد و درصد EHV-4 <sup>+</sup>	تعداد و درصد EHV-1 <sup>+</sup>	تعداد نمونه	سن (سال)
۲۵ ٪۶۲/۵۰	۱۱ ٪۲۷/۵۰	۴۰	< ۱
۲۷ ٪۶۹/۲۳	۱۳ ٪۳۳/۳۳	۳۹	۲
۲۰ ٪۷۱/۴۲	۱۰ ٪۳۵/۷۱	۲۸	۳
۲۶ ٪۷۴/۲۸	۱۴ ٪۴۰	۳۵	۴
۲۲ ٪۶۸/۷۵	۲۰ ٪۶۲/۵۰	۳۲	> ۵