"مقاله پژوهشی"
DOI: 10.30495/JVCP.2021.1921987.1295

بررسی ارتباط شیوع سرمی بیماری گورم با متغیرهای سن، جنس، نژاد، بیماری تنفسی و منطقه جغرافیایی در شهرستان تبریز

سینا مقدم[۱]، علی حسن‌پور[۲*]، جلال شایق[۳]

۱- دستیار تخصصی گروه بیماری‌های داخلی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۲- دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
۳- استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: a_hasanpoor@iaut.ac.ir
(دریافت مقاله: ۹۹/۱۱/۹ پذیرش نهایی: ۱٤۰۰/۳/٤)

چکیده

گورم یک بیماری عفونی و واگیردار شایع در تک‌سمی‌ها است که توسط *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* ایجاد می‌گردد. بدین منظور مطالعه حاضر، روی ۱۸٤ رأس اسب به منظور بررسی فراوانی حاملین باکتری مذکور در جمعیت اسب‌های اسبداری‌های شهرستان تبریز انجام گرفت. جهت بررسی حضور پادتن ضد پروتئین M *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* در سرم اسب‌های مورد آزمایش، نمونه‌های خون اخذ گردید. نمونه‌های سرمی جمع‌آوری‌شده به وسیله آزمایش الایزای غیرمستقیم از نظر وجود پادتن فوق مورد بررسی قرار گرفت. فراوانی نسبی حاملین در نریان ۵۳/۳ درصد و مادیان ۲٤/۵ درصد بود. بین فراوانی حاملین و جنسیت، ارتباط معنی‌داری مشاهده شد ($p<$۰/۰۰۱). همچنین شیوع سرمی حاملین در اسب‌های با سابقه بیماری تنفسی ۹۵ درصد و بدون سابقه بیماری تنفسی ۳۹/٦ درصد بود. ارتباط معنی‌داری بین فراوانی حاملین و سابقه بیماری تنفسی وجود داشت ($p<$۰/۰۰۱). شیوع سرمی در اسب‌های نژاد کرد ٦۸/۲ درصد، نژاد عرب ۳۷/۱ درصد، نژاد دوخون ٦٤ درصد و نژاد تروبرد ۸۰ درصد تعیین شد. بین فراوانی حاملین و نژاد ارتباط معنی‌داری مشاهده شد ($p<$۰/۰۵). بین حاملین و سن اسب‌ها ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد ($p>$۰/۰۵). نتایج آزمون کای اسکور نیز نشان داد که بیشترین نتایج مثبت مربوط به منطقه آرپادرسی نسبت به باسمنج و خسروشهر شهرستان تبریز می‌باشد ($p<$۰/۰۰۱). مطالعه حاضر اولین بررسی در مورد بیماری گورم در منطقه شهرستان تبریز بود که نتایج آن نشان‌دهنده وجود حاملین پایدار عامل این بیماری، بدلیل احتمالی عدم رعایت بهداشت مناسب در باشگاه‌های سوارکاری منطقه مذکور می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی*، گورم، اسب، الایزا، تبریز.

مقدمه

میزبان اصلی *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* تک سمی‌ها بوده و بیماری ناشی از این باکتری بنام گورم (strangles)، در اسب‌ها، اسبچه‌ها، الاغ‌ها و قاطرها در سراسر جهان به استثنای ایسلند اتفاق می‌افتد و همه ساله خسارات اقتصادی فراوانی به صنعت اسب‌داری تحمیل می‌کند (Constable *et al*., 2017). گورم جزء شایع‌ترین و مهم‌ترین بیماری‌های عفونی تک‌سمی‌ها در سرتاسر دنیا می‌باشد (Hassanpour and Fartashvand, 2013). بیماری مذکور برای اولین بار توسط جردانوس رافوس از کالابریا (ناحیه‌ای در جنوب غربی ایتالیا) توسط یک شوالیه از امپراطوری فریدریش دوم، در سال ۱۲۵۱ میلادی توصیف شده‌است (Paillot *et al*., 2017)، که بونگرت این گزارش را در کتابچه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در سال ۱۹۲۹ ارائه کرده‌است (Timoney, 1993). در سال ١٦٦٤، اولین نسخه از کتاب The perfect stable master در رابطه با سلامتی اسب‌ها منتشر شد که نویسنده کتاب مذکور ژاک دی سولئیسل، درباره بیماری گورم در فصل ٢٤ الی ٢٦ کتاب توضیحاتی را به تفصیل شرح داده‌است. البته قبل از وی در اواسط قرن ١٤ واژه گورم که یک لغت فرانسوی بوده به‌جای استرانگلز استفاده شده است (Paillot *et al*., 2017). همچنین بیماری فوق در قرن ۱۳ در منابع علمی اروپائی نیز توصیف شده‌است (Taylor and Wilson, 2006). از قرن ۱۷ نظریه‌های بالینی بسیار مناسبی در مورد گورم به کار رفته و راه‌های انتقال و نشانه‌های بالینی آن علی‌رغم عدم آگاهی از علم میکروب‌شناسی، در آن زمان ارائه شده‌است. اما عامل بیماری گورم یعنی *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* برای اولین بار توسط شوتز در سال ۱۸۸۸ میلادی در آزمایشگاه جدا شده‌است (Paillot *et al*., 2017). با توجه به این‌که باکتری مذکور انگل اجباری بوده و برای بقاء نیاز به میزبان دارد، بنابراین گسترش آن با توزیع جمعیت اسب‌ها رابطه مستقیم دارد (Timoney, 1993). اولین گزارش بروز همه‌گیری بیماری گورم در ایران، از کانون‌های نگه‌داری اسب در تهران صورت گرفته و با توجه به نحوه نگه‌داری اسب‌ها و تماس نزدیک آن‌ها با یکدیگر و عدم رعایت بهداشت مناسب، درصد واگیری خیلی بالا بود، به‌طوری‌که در یک کانون فراوانی ابتلا به بیماری گورم ۱۰۰ درصد و در کانونی دیگر حدود ۸۹ درصد گزارش شده‌است (Noormohamadzadeh *et al*., 1992).

بیماری گورم یک بیماری واگیردار در تک‌سمی‌ها بوده و حاملین بدون علامت آن مسئول حفظ عفونت در سطح باشگاه‌های سوارکاری می‌باشند و تنها راه تشخیص حاملین استفاده از روش‌های سرولوژیکی، کشت باکتریایی و PCR می‌باشد. به دلیل واگیردار بودن بیماری، اسب‌های آلوده و حاملین از اسب‌های سالم جدا گردیده و اصطبل و وسایل آلوده ضدعفونی گردیده و اسب‌های سالم واکسینه می‌شوند. اما واکسن‌های مورد استفاده در کنترل بیماری ایمنی مناسبی را در اسب‌ها ایجاد نمی‌کنند و عموماً کمتر از ۵۰ درصد سبب ایمنی در برابر بیماری گورم می‌شوند. گزارش شده که پروتئین M *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* بیشترین خاصیت آنتی‌ژنیک را داشته و سبب تولید پادتن و محافظت اسب‌ها در برابر عود مجدد بیماری می‌شود (Moraes *et al*., 2009). عقیده بر این است که آزمایش الایزا برای اندازه‌گیری پادتن اختصاصی ضد

پروتئین M *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* در سرم اسب‌ها، جهت تشخیص بیماری گورم، آبسه‌های متاستاتیک، پورپورای هموراژیکا و تصمیم گیری برای واکسیناسیون می‌تواند مفید باشد (Sweeney *et al.*, 2005). بیماری مذکور می‌تواند به‌طور مستقیم و غیرمستقیم منتقل شود. دوره کمون آن متغیر بوده و از حدود ۱ تا ۳ هفته می‌باشد. بیماری از طریق تب، التهاب غشاهای مخاطی دستگاه تنفس فوقانی، ترشحات چرکی مخاطی بینی، آبسه‌های غدد لنفاوی تحت فکی و عقب حلقی مشخص می‌شود. آبسه‌ها پس از پاره شدن، معمولاً اگزودای چرکی فراوانی از خود ترشح می‌کنند. غالباً اسب‌های ۱ تا ۵ ساله تحت تأثیر قرار می‌گیرند ولی اسب‌های جوان حساس‌تر می‌باشند. تشخیص بیماری هم بر اساس علائم بالینی، کشت، روش‌های مولکولی و روش‌های سرولوژیکی قابل انجام می‌باشد. *استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی* به طیف گسترده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌ها ازجمله پنی‌سیلین پروکائین بسیار حساس بوده و هیچ نشانه‌ای از مقاومت دارویی را نشان نمی‌دهد. اسب‌های با تب بالا، افسردگی شدید، اختلال در بلع و انسداد راه‌های هوایی باید با آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند پنی‌سیلین، کلرآمفنیکل، اریترومایسین و تتراسایکلین همراه با داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی نظیر فنیل‌بوتازون و فلونکسین مگلومین درمان شوند (Chanter, 1997; Sweeney *et al.*, 2005; Webb *et al.*, 2013; Cordoni *et al.*, 2015; Tonpitak *et al.*, 2016; Boyle, 2016; Delph *et al.*, 2019).

شهرستان تبریز دارای باشگاه‌های سوارکاری متعددی بوده و نژادهای مختلف اسب در آن‌ها نگه‌داری و پرورش داده می‌شود که این کار برای برخی از ساکنین این شهر به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم جنبه اقتصادی دارد. لذا کنترل بیماری‌های واگیردار برای سرمایه‌گذاران صنعت اسب و دامپزشکان حائز اهمیت می‌باشد. بنابراین یافته‌های مطالعه حاضر که اولین بررسی در خصوص ارزیابی فراوانی حاملین *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* در جمعیت اسب‌های اسب‌داری‌های شهرستان تبریز به روش الایزا بود، می‌تواند اطلاعات دقیق و مفیدی را درباره چگونگی مدیریت و کنترل بیماری گورم و تحقیقات مرتبط بعدی در اختیار پرورش دهندگان اسب و دامپزشکان قرار دهد.

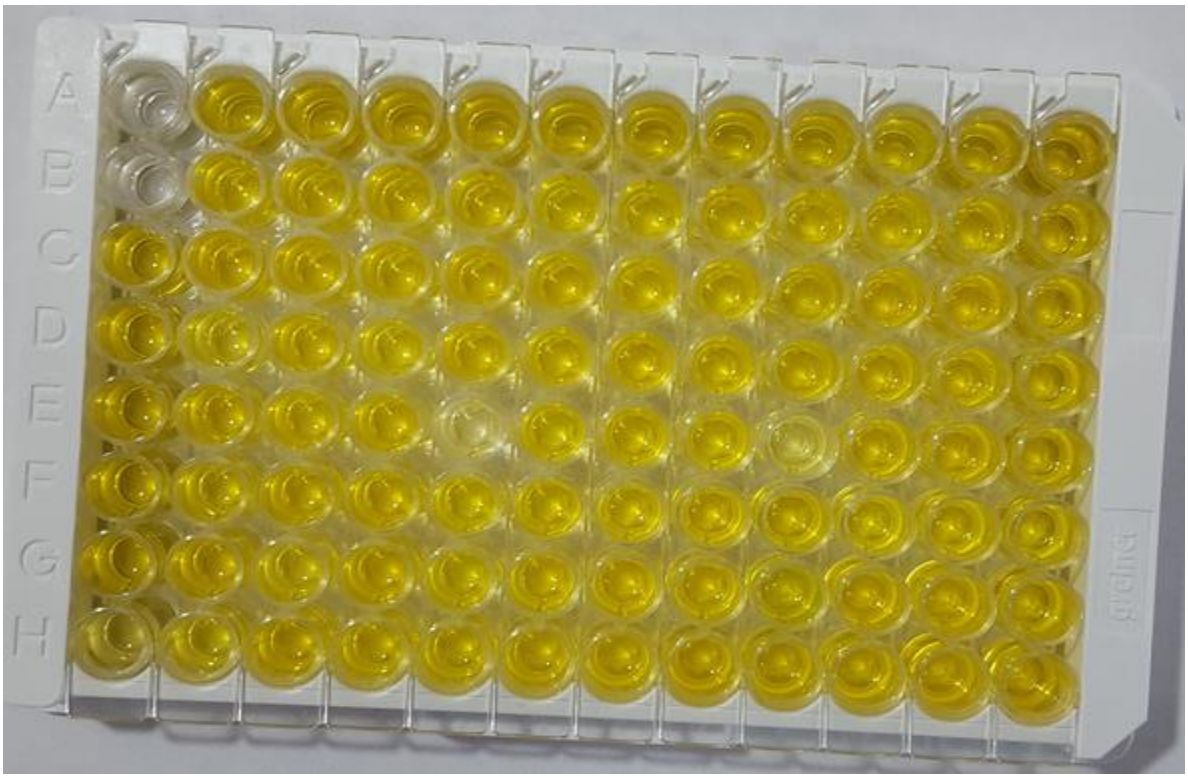
مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر از تعداد ۱۸٤ رأس اسب در فاصله زمانی دی ماه ۱۳۹۵ الی فروردین ماه ۱۳۹٦ جهت بررسی حضور پادتن ضد پروتئین M *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* در سرم اسب‌های شهرستان تبریز، نمونه‌های خون اخذ گردید که بدین منظور از روش نمونه‌گیری تصادفی- طبقه‌ای استفاده شد. نمونه‌های سرمی از اسب‌ها با توجه به جامعه آماری از اسب‌داری‌های صنعتی و سنتی مناطق مختلف شهرستان تبریز جمع‌آوری شد که بر طبق فرمول کوکران ($n=\frac{Nz^2pq}{Nd^2+z^2pq}$) و با توجه به حجم جامعه آماری ۱۵۰۰ رأس اسب در باشگاه‌های سوارکاری شهرستان تبریز و مقدار خطای (d) ۰/۰٦۸، تعداد کل نمونه‌های مورد نیاز، ۱۸٤ مورد، برآورد گردید.

نمونه‌های خون از طریق ورید وداج اسب‌ها، پس از ضدعفونی توسط الکل ۷۰ درجه (کیمیا الکل زنجان،

ایران) با استفاده از سرنگ استریل (لوئر اسلیپ، آوا) ۱۰ میلی‌لیتری جمع آوری شده و به داخل لوله‌های آزمایش فاقد ماده ضد انعقاد (شرکت IMPROVE) ریخته می‌شد. همزمان با اخذ نمونه‌های خون، لوله‌های آزمایش مورد استفاده، شماره‌گذاری شده و شماره آن‌ها در پرسشنامه درج می‌گردید. در ادامه نمونه‌های خون به ترتیب شماره در جای لوله‌ای و داخل فلاسک حاوی یخ خشک قرارگرفته و جهت مطالعه به آزمایشگاه کلینیکال پاتولوژی و میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز منتقل می‌شد. در دمای آزمایشگاه بعد از ۲ ساعت و پس از لخته‌شدن خون، به وسیله اپلیکاتور اتصالات لخته درون لوله آزمایش به آرامی از جدار لوله آزاد گردیده و محتویات لوله‌ها با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۲ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند (سانتریفیوژ ۱۶ شاخه‌ای Behdad- ایران). سپس سرم تشکیل‌شده، توسط سمپلر تک‌کانال ۱۰۰۰ میکرولیتری (Boeco- آلمان) از قسمت رویی لوله برداشته شده و به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری شماره‌گذاری‌شده منتقل می‌گردید. میکروتیوب‌های مذکور در داخل رک میکروتیوب به ترتیب قرار داده شده و تا زمان انجام آزمایش الایزای غیرمستقیم به فریزر منفی ۲۰ درجه سلسیوس منتقل می‌شدند.

میکروپلیت‌ها در طول موج ٤٥٠ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر (Tecan Spectra- استرالیا) قرائت و نتایج تفسیر می‌شدند (شکل ۱).



شکل ۱- نمای نتیجه نهایی آزمون الایزای غیرمستقیم نمونه‌های سرمی اسب‌های مورد آزمایش

کیت الایزای استفاده‌شده (شرکت ID.vet فرانسه- کد STREPTOS-2P) دارای حساسیت ۸۹/۹ درصد و ویژگی ۷۷ درصد بود. کیت مذکور بر اساس الایزای غیرمستقیم طراحی شده و در آن به‌عنوان پادگن، از پروتئین M *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* (فاکتور حدت این باکتری با خاصیت ضد بیگانه‌خواری) استفاده شده‌است. این کیت قادر به شناسایی پادتن‌های تولیدی ضد پروتئین M *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* در سرم اسب‌ها می‌باشد که در صورت حضور پادتن ضد پروتئین M *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* در نمونه‌های سرم، کمپلکس پادگن- پادتن تشکیل می‌شود (Moraes *et al.*, 2009). طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت، اگر مقدار متوسط جذب نوری کنترل مثبت (Optical Density Positive Control; ODPC) بیشتر از ۰/۳۵۰ و نسبت مقدار متوسط جذب نوری کنترل مثبت به کنترل منفی (Optical Density Negative Control; ODNC) بیشتر از ۳ باشد، نشان‌دهنده صحت انجام الایزا است که در این صورت برای هر نمونه درصد S/P مطابق فرمول زیر محاسبه شده و تفسیر نتایج صورت گرفت.

$$S/P\% = \frac{OD_{sample}}{OD_{PC}} \times 100$$

بر این اساس، نمونه‌هایی که درصد S/P آن‌ها کمتر از ۱۰۰ درصد بود، از نظر آلودگی منفی تلقی و نمونه‌هایی که درصد S/P آن‌ها مساوی یا بیشتر از ۱۰۰ درصد بود، از نظر آلودگی مثبت تلقی گردید.

-**تحلیل آماری داده‌ها:** به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۶ و جهت مقایسه میانگین و انحراف معیار تیتر سرم‌های مورد آزمایش، از روش آماری T-test استفاده شد. همچنین $p<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌دار آماری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در جدول ۱، توزیع فراوانی موارد منفی و مثبت حاملین بیماری گورم به تفکیک سن ارائه شده‌است که نشان می‌دهد شیوع سرمی حاملین مذکور در اسب‌های ۲ ساله و کمتر، ۳۴/۶ درصد، ۶-۳ ساله، ۴۰ درصد، ۱۰-۶ ساله، ۵۵/۱ درصد و در اسب‌های بالای ۱۰ سالگی، ۵۵/۲ درصد بود. همچنین شیوع سرمی حاملین بیماری گورم در بین نریان، ۵۳/۳ درصد و در بین مادیان، ۲۴/۵ درصد تعیین شد. بین فراوانی اسب‌های حامل بیماری گورم و سن آن‌ها نیز، ارتباط آماری معنی‌داری وجود نداشت ($p>۰/۰۵$).

جدول ۱- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی مثبت و منفی حاملین *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* به تفکیک سن (بر حسب سال)

فراوانی	موارد مثبت		موارد منفی		
دامنه سنی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	سطح معنی‌داری
۲>	۹[a]	۳۴/۶	۱۷	۶۵/۴	
۶-۳	۳۲[a]	۴۰	۴۸	۶۰	۰/۱۳۰
۱۰-۶	۲۷[a]	۵۵/۱	۲۲	۴۴/۹	
۱۰<	۱۶[a]	۵۵/۲	۱۳	۴۴/۸	

a: حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

در جدول ۲ توزیع فراوانی موارد منفی و مثبت حاملین بیماری گورم به تفکیک جنس ارائه شده‌است که نشان می‌دهد شیوع سرمی حاملین مذکور در اسب‌های نژاد کرد، ۶۸/۲ درصد، نژاد عرب، ۳۷/۱ درصد، نژاد دوخون، ٦٤ درصد و نژاد تروبرد، ۸۰ درصد بود. همچنین بین فراوانی اسب‌های حامل بیماری گورم و جنسیت آن‌ها، ارتباط آماری بسیار معنی‌داری مشاهده شد ($p<۰/۰۰۱$).

جدول ۲- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی مثبت و منفی حاملین استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی به تفکیک جنسیت

فراوانی	موارد مثبت		موارد منفی		
جنسیت	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	سطح معنی‌داری
نریان	۷۲	۵۳/۳	٦۳	٤٦/۷	۰/۰۰۱
مادیان	۱۲	۲٤/۵	۳۷	۷۵/۵	

در جدول ۳ توزیع فراوانی موارد منفی و مثبت حاملین بیماری گورم به تفکیک نژاد ارائه شده‌است که نشان می‌دهد شیوع سرمی حاملین مذکور در اسب‌های با سابقه بیماری تنفسی ۹۵ درصد و در اسب‌های بدون سابقه بیماری تنفسی ۳۹/٦ درصد بود. همچنین بین فراوانی اسب‌های حامل بیماری گورم و نژاد آن‌ها ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).

جدول ۳- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی مثبت و منفی حاملین *استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی* به تفکیک نژاد اسب‌ها

نوع نژاد	موارد مثبت		موارد منفی		
	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی	سطح معنی‌داری
کرد	۱۵[c]	٦۸/۲	۷	۳۱/۸	
عرب	٤۹[a]	۳۷/۱	۸۳	٦۲/۹	۰/۰۰۳
دوخون	۱٦[b]	٦٤	۹	۳٦	
تروبرد	٤[d]	۸۰	۱	۲۰	

a,b,c,d: حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($p>۰/۰۵$).

در جدول ٤ توزیع فراوانی موارد منفی و مثبت حاملین بیماری گورم به تفکیک سابقه بیماری تنفسی ارائه شده‌است که نشان می‌دهد ارتباط معنی‌داری بین فراوانی حاملین بیماری مذکور و سابقه بیماری تنفسی وجود داشت ($p<۰/۰۰۱$).

جدول ٤- فراوانی موارد سرمی مثبت و منفی حاملین *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* با تکیه بر سابقه بیماری تنفسی در اسب‌های مورد آزمایش

سابقه بیماری تنفسی	موارد مثبت		موارد منفی		
	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی	سطح معنی‌داری
دارد	۱۹	۹۵	۱	۵	۰/۰۰۰
ندارد	٦۵	۳۹/٦	۹۹	٦۰/٤	

همچنین در جدول ۵ توزیع فراوانی موارد منفی و مثبت حاملین بیماری گورم به تفکیک منطقه جغرافیایی ارائه شده‌است که نشان می‌دهد شیوع سرمی حاملین مذکور در اسب‌های منطقه‌های آرپادرسی ۵۹/۱ درصد، باسمنج ۲۹/۳ درصد و خسروشهر ۸۱/۳ درصد بود. نتایج آزمون کای اسکور (Chi-squared test) نیز نشان داد که بین نمونه‌های مربوط به مناطق جغرافیایی ذکرشده (مناطق مختلف شهرستان تبریز) و نتایج مثبت و منفی آزمون الایزا غیرمستقیم، ارتباط آماری بسیار معنی‌دار وجود داشت ($p<$۰/۰۰۱)، به‌طوری‌که بیشترین نتایج مثبت آزمایش مذکور در منطقه آرپادرسی شهرستان تبریز مشاهده گردید.

جدول ۵- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی مثبت و منفی حاملین *استرپتوکوکوس اکوئی تحت گونه اکوئی* به تفکیک منطقه جغرافیایی

منطقه جغرافیایی شهرستان تبریز	موارد مثبت		موارد منفی		
	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی	سطح معنی‌داری
آرپادرسی	۷۵[a]	۵۹/۱	۵۲	٤۰/۹	
باسمنج	۱۲[c]	۲۹/۳	۲۹	۷۰/۷	۰/۰۰۰
خسروشهر	۱۳[b]	۸۱/۳	۳	۱۸/۸	

a,b,c: حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($p<$۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر اولین بررسی سرواپیدمیولوژیکی حاملین بیماری گورم در منطقه شهرستان تبریز می‌باشد که در طی آن، فراوانی شیوع سرمی آلودگی به *استرپتوکوکوس اکوئی تحت‌گونه اکوئی* با تکیه بر متغیرهای سن، جنس، نژاد، بیماری تنفسی و منطقه جغرافیایی، روی ۱۸٤ رأس اسب برای بررسی فراوانی حاملین مذکور که نقش مهمی در انتقال بیماری گورم به اسب‌های سالم دارند، مورد ارزیابی قرار گرفت.

آزمایش الایزا برای اندازه‌گیری پادتن اختصاصی ضدپروتئین M *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* در سرم در تشخیص بیماری گورم، آبسه‌های متاستاتیک، پورپورا هموراژیکا و تصمیم‌گیری برای واکسیناسیون می‌تواند مفید باشد (Sweeney *et al.*, 2005) که در مطالعه حاضر هم از این آزمایش و به کمک کیت شرکت ID.vet فرانسه که قادر به شناسایی پادتن‌های تولیدی ضدپروتئین M *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* در سرم اسب‌ها می‌باشد (Moraes *et al.*, 2009)، برای شناسایی حاملین بیماری گورم استفاده شد. در این ارتباط، در مطالعه‌ای عملکرد الایزا برای تشخیص حاملین بدون علامت بیماری گورم اسب‌ها را مورد ارزیابی قرار دادند، به‌طوری‌که پادتن‌های سرمی ضد پادگن‌های A وC *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* به وسیله آزمایش الایزا و با کات آف (cut-off) جذب نوری بیشتر از ۰/۵۰ مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که ۱۰ مورد از نمونه‌های اسب‌های مورد آزمایش به هر دو پادگن A و C پاسخ مثبت دادند، ۱۳ مورد از نمونه‌ها تنها به پادگن A و ۱۷ مورد از نمونه‌های مورد آزمایش هم فقط به پادگن C پاسخ مثبت نشان دادند و از ۲٦ مورد از اسب‌های مورد آزمایش هم نتایج منفی گزارش شد. در این تحقیق نتیجه گرفته شد که سرولوژی

می‌تواند سبب شناسایی حاملین بدون علامت با کات آف جذب نوری بیش از ۰/۳۰ شود (Grondahl *et al.*, 2016). در بررسی حاضر هم از ۱۸٤ رأس اسبی که با استفاده از آزمایش الایزای غیرمستقیم بررسی شدند، ۱۰۰ مورد منفی و ۸٤ مورد حامل بیماری گورم تشخیص داده‌شدند و مشخص گردید که شیوع بیماری مذکور در منطقه شهرستان تبریز مطرح بوده و باید برنامه کنترلی جامع در نظر گرفته شود. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۰ برای تشخیص *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت-گونه *اکوئی* در اسب‌های بستری شده از یک آزمون سرولوژیکی استفاده کردند که ۳۰ رأس اسب بدون علائم بالینی بیماری گورم، برای تشخیص این‌که در معرض باکتری مذکور قرار گرفته‌اند، آزمایش شدند. همچنین اسب‌های مذکور توسط آندوسکوپی جیوب حلقی و PCR بر روی مواد شستشو شده هم مورد بررسی قرار گرفتند. از صاحبان اسب‌ها نیز تاریخچه اخیر اسب‌ها مورد پرسش قرار گرفت. آزمون سرولوژی مذکور نشان داد که ٤ رأس از اسب‌ها اخیراً در معرض *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* قرار گرفته‌اند. همچنین مشخص شد علی‌رغم این‌که هیچ کدام از اسب‌ها سابقه بیماری گورم را نداشتند، اما مشخص شد که ۳ مورد از ٤ رأس اسب سرم مثبت، جدیداً نشانه‌های غیراختصاصی بیماری تنفسی را نشان داده‌بودند. نتیجه PCR یک مورد از اسب‌های بدون علامت بالینی نیز مثبت ولی در مورد مابقی اسب‌ها، نتایج PCR و بررسی آندوسکوپیک مثبت نبود. از طرف دیگر در تحقیق مذکور، جهت تأیید نتایج آزمون سرولوژیکی، تعداد ۱۰ رأس اسب دیگر که دارای بیماری گورم بودند هم مورد آزمایش قرار گرفتند که تمامی آن‌ها نتایج مثبت سرمی نشان دادند. بر این اساس اعلام کردند که آزمون مورد استفاده در تحقیق فوق، دارای حساسیت ۱۰۰ درصد و ویژگی۸۷ درصد در شناسایی حاملین می‌باشد و این نشان می‌دهد که استفاده همزمان از آزمون‌های مختلف برای شناسایی بیماری گورم باعث افزایش دقت در کنترل بیماری گورم می‌گردد و لذا توصیه می‌شود که در کنار آزمون الایزا از آزمون‌های دیگری هم برای ریشه‌کنی این بیماری استفاده گردد (Knowles *et al.*, 2010). مطالعه‌ای هم در خصوص ترکیب دو روش برای بهینه‌سازی ویژگی و حساسیت آزمایشات سرولوژیکی در شناسایی حاملین بیماری گورم روی نمونه‌های ۲۲۸ رأس اسب صورت گرفته که راهکار اصلی در آن، استفاده از داده‌های توالی ژنوم برای توسعه iELISA (Indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay) بود که با بررسی دو قطعه پروتئین اختصاصی *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* انجام شد و در طی آن حساسیت و ویژگی آنتی‌ژن A و آنتی‌ژن C که جزء iELISA بودند با الایزای غیرمستقیم کوت‌شده *SeM* تولیدی شرکت ID.vet مقایسه شدند. نتایج به‌دست آمده برای *SeM* iELISA به‌صورت حساسیت ۸۹/۹ درصد و ویژگی ۷۷ درصد بود و برای آنتی‌ژن A به صورت حساسیت ۷٤/۲ درصد و ویژگی ۹۳/۳ درصد بود و برای آنتی‌ژن C به صورت حساسیت ۵۹/٦ درصد و ویژگی ۱۰۰ درصد بود. با این‌حال، ترکیب آنتی‌ژن A و آنتی‌ژن C که جز الایزای‌های غیرمستقیم می‌باشند، نتایج به صورت حساسیت ۹۳/۳ درصد و ویژگی ۹۹/۳ درصد گزارش شد و سبب بهینه‌سازی در حساسیت و ویژگی آزمون و باعث ارائه یک آزمون قوی در شناسایی حاملین پایدار

استرپتوکوکوس اکوئی تحت‌گونه *اکوئی* گردید . البته اخیراً در تحقیقی به نارسایی آزمایش سرولوژی (آنتی‌ژن A و آنتی‌ژن C) در شناسایی حاملین جیوب حلقی اشاره و توصیه شده‌است که در صورت منفی بودن نمونه‌های سرمی، وضعیت حاملین مزمن با احتیاط تفسیر گردد و آزمایش PCR جهت تشخیص دقیق استفاده گردد (Robinson *et al*., 2013; Durham *et al*., 2021). بنابراین به نظر می‌رسد که استفاده از کیت شرکت ID.VET در تحقیق حاضر مناسب‌تر از استفاده از آزمایش سرولوژی ترکیبی آنتی‌ژن A و آنتی‌ژن C بوده‌است.

در تحقیقی عوامل مرتبط در اسب‌ها با داشتن تیتر-های بالای پادتن اختصاصی ضد *SeM* *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* در سرم مورد بررسی قرار گرفت که سن، نژاد و وضعیت واکسیناسیون به طور قابل توجهی با احتمال داشتن یک تیتر مساوی و بالای ۱۶۰۰ همراه بود. یافته‌های مطالعه مذکور نشان داد که فاکتورهایی از جمله جنس، نژاد و سابقه بیماری تنفسی به طور قابل توجهی سبب افزایش شیوع سرمی حاملین می‌شوند (Boyle *et al*., 2009). گورم در وهله اول اسب‌های جوان‌تر را درگیر می‌کند، اگرچه بیماری می‌تواند در هر سنی رخ دهد و باشگاه‌های سوارکاری که اصول بهداشتی را رعایت نکرده و از وسایل مهتر جداگانه برای هر رأس اسب استفاده نمی‌کنند، سبب افزایش شیوع گورم در هر سنی در اسب‌ها می‌گردد (Waller *et al*., 2014) که نتایج تحقیق حاضر هم مشخص کرد که عدم رعایت اصول بهداشتی در باشگاه‌های سوارکاری شهرستان تبریز سبب شده که ارتباط معنی‌داری در رابطه با سن و شیوع حاملین مشاهده نگردیده و سبب شده که در تمامی سنین درگیری وجود داشته باشد (جدول ۱). همچنین در رابطه با متغیر سن، هم‌سو با تحقیق صورت‌گرفته در شهرستان ارومیه، ارتباط معنی‌داری با میزان شیوع حاملین مشاهده نگردید (جدول ۱)، ولی در تحقیق صورت‌گرفته در استان خوزستان مطابق با آزمون رگرسیون (Regression test) شانس مواجهه با افزایش یک سال سن، ۱۰ درصد افزایش نشان داده و ارتباط معنی‌داری بین متغیر سن و بیماری گورم گزارش شده‌بود و همچنین در مطالعه صورت گرفته در عراق نیز میزان شیوع بیماری گورم در اسب‌های با سن زیر ۳ سال نسبت به اسب‌های مسن‌تر بیشتر گزارش شده‌است (Mohammadi *et al*., 2016; Al-Gharban, 2017; Minaii and Araghi-Sooreh, 2020). در ارتباط با حساسیت نژادی گزارشی وجود ندارد، البته در تحقیق حاضر ارتباط معنی‌داری بین حاملین بیماری گورم و نژاد وجود داشت.

همچنین براساس یافته‌های ثبت‌شده در جدول ۲ تحقیق حاضر، ارتباط بسیار معنی‌داری بین جنس و شیوع حاملین هم مشاهده گردید، به‌طوری‌که میزان شیوع سرمی حاملین بیماری گورم در نریان (درصد) بیشتر از مادیان بود (به‌ترتیب ۵۳/۳ و ۲۴/۵ درصد) که در این مورد در تحقیقات انجام‌شده در استان خوزستان و شهرستان ارومیه برخلاف نتایج ما، ارتباط معنی‌داری بین جنس و شیوع حاملین گزارش نشده، هرچند در مطالعه صورت گرفته در استان خوزستان میزان شیوع حاملین بیماری گورم در مادیان‌ها (۳۹/۵۳ درصد) به طور غیرمعنی‌داری بیشتر از نریان‌ها (۳۲/۷۳ درصد) بوده، همچنین در مطالعه صورت گرفته در شهرستان

ارومیه نیز میزان شیوع حاملین بیماری مذکور در مادیان‌ها به طور غیرمعنی‌داری بیشتر از نریان‌ها بوده است. در ارتباط با منطقه جغرافیایی بیشترین موارد مثبت بیماری گورم در استان خوزستان مربوط به شهرستان دزفول بود و در تحقیق حاضر مربوط به منطقه آرپادرسی شهرستان تبریز بود (Mohammadi *et al*., 2016; Minaii and Araghi-Sooreh, 2020).

در تحقیقی هم ارتباط بین سابقه بیماری تنفسی و سرواپیدمیولوژی پاتوژن‌های تنفسی در اسب‌های کار اتیوپی بررسی شده که بر خلاف یافته‌های تحقیق حاضر در جدول ٤، هیچ ارتباط معنی‌داری بین وضعیت سرمی آلودگی به *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* با سابقه بیماری تنفسی که توسط مالکین اسب‌ها گزارش شده‌بود، وجود نداشت (Laing *et al*., 2018). همچنین در مطالعه‌ای وجود *استرپتوکوکوس اکوئی* را در ۳۰ رأس اسب دارای علائم عفونت تنفسی در مشهد بررسی نمودند و در کشت باکتریایی سواپ بینی یک مورد *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* و ۲۵ مورد *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *زواپیدمیکوس* جدا شد (Jannatabadi *et al*., 2008).

هرچند مطالعات مختلفی در ارتباط با پارامترهای سرمی در اسب‌های مبتلا به بیماری گورم و سالم به صورت مقایسه‌ای در شهرستان تبریز صورت گرفته است (Hassanpour and Fartashvand, 2013; Hassanpour, 2017; Hassanpour *et al*., 2017)، اما به نظر می‌رسد که بررسی حاضر در جمعیت اسب‌های اسبداری‌های شهرستان تبریز با در نظر گرفتن متغیرهای سن، جنس، نژاد، بیماری تنفسی و منطقه جغرافیایی در شهرستان تبریز، اولین بررسی مدون در مورد فراوانی حاملین *استرپتوکوکوس اکوئی* تحت‌گونه *اکوئی* در سطح شهرستان مذکور بوده که نتایج نشان‌دهنده عدم رعایت بهداشت مناسب و وجود حاملین پایدار در سطح باشگاه‌های سوارکاری می‌باشد. لذا ضروری است که در جهت کنترل حاملین بیماری مذکور، اقداماتی نظیر رعایت اصول بهداشتی و قرنطینه کردن اسب‌های جدید، مد نظر باشند و همچنین به دلیل شیوع سرمی بالای بیماری گورم در سطح شهرستان تبریز، بهتر است که آزمون‌هایی با دقت بالاتر مانند PCR براساس سواب‌های بینی یا لاواژ جیوب حلقی هم انجام گیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان از جناب آقای دکتر منصور خاکپور استادیار گروه پاتوبیولوژی و کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی و کلینیکال پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به خاطر همکاری در اجرای تحقیق حاضر قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع

●Al-Gharban, H.A.A.J. (2017). Seroepidemiological detection and culture utilization for diagnosis of carrier horses and donkeys with strangles. Journal of College of Education, 28(1): 649-660.

●Boyle, A. (2017). Strangles and its complications. Equine Veterinary Education, 29(3): 149-157.

●Boyle, A.G., Sweeney, C.R., Kristula, M., Boston, R., and Smith, G. (2009). Factors associated with likelihood of horses having a high serum Streptococcus equi SeM-specific antibody titer. Journal of the American Veterinary Medical Association, 235(8): 973-977.

●Chanter, N. (1997). Streptococci and enterococci as animal pathogens. Journal of Applied Microbiology, 83(Suppl.): 100S-109S.

●Constable, P.D., Hinchcliff, K.W., Done, S.H. and Grünberg, W. (2017). Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. 11th ed., Elsevier Health Sciences, pp: 1019-1026.

●Cordoni, G., Williams, A., Durham, A., Florio, D., Zanoni, R.G. and La Ragione, R.M. (2015). Rapid diagnosis of strangles (Streptococcus equi subspecies equi) using PCR. Research in Veterinary Science, 102: 162-166.

●Delph, K.M., Beard, L.A., Trimble, A.C., Sutter, M.E., Timoney, J.F. and Morrow, J.K. (2019). Strangles, convalescent Streptococcus equi subspecies equi M antibody titers, and presence of complications. Journal of Veterinary Internal Medicine, 33(1): 275-279.

●Durham, A.E. and Kemp-Symonds, J. (2021). Failure of serological testing for antigens A and C of Streptococcus equi subspecies equi to identify guttural pouch carriers. Equine Veterinary Journal, 53(1): 38-43.

●Gröndahl, G., Melys, V., Ljung, H., Riihimäki, M. and Båverud, V. (2016). Performance of the iELISA in horses with long term guttural pouch carriage of Streptococcus equi equi. Journal of Equine Veterinary Science, (39): S13-S14.

●Hassanpour, A. (2017). Evaluation of serum levels of sialic acid, total protein and albumin in the horses with strangles. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 14(1): 2097-2104. [In Persian]

●Hassanpour, A. and Fartashvand, M. (2013). Serumic concentration of cardiac troponin and some enzymes in horses with strangles. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 6(4): 1703-1708. [In Persian]

●Hassanpour, A., Alipour Kheirkhah, H.R. and Moghaddam, S. (2017). Evaluation of serumic concentration of Haptoglobin and Serum Amyloid-A in horses affected with strangles. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 11(3): 277-284. [In Persian]

●Jannatabadi, A., Mohammadi, G., Rad, M. and Maleki, M. (2008). Molecular identification of Streptococcus equi subsp. equi and Streptococcus equi subsp. zooepidemicus in nasal swabs samples from horses suffering respiratory infections in Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS, 11(3): 468-471.

●Knowles, E., Mair, T., Butcher, N., Waller, A. and Wood, J. (2010). Use of a novel serological test for exposure to Streptococcus equi subspecies equi in hospitalised horses. Veterinary Record, 166(10): 294-297.

●Laing, G., Christley, R., Stringer, A., Aklilu, N., Ashine, T., Newton, R., et al. (2018). Respiratory disease and seroepidemiology of respiratory pathogens in the working horses of Ethiopia. Equine Veterinary Journal, 50(6): 793-799.

●Libardoni, F., Vielmo, A., Farias, L., Matter, L.B., Pötter, L., Spilki, F.R., et al. (2013). Diversity of SeM in Streptococcus equi subsp. equi isolated from strangles outbreaks. Veterinary Microbiology, 162(2-4): 663-669.

●Mohammadi, A., Pourmahdi Borujeni, M., Gharibi, D. and Ghadrdan Mashhadi, A. (2016). A serological survey on strangles disease in horses of some areas in Khuzestan province by ELISA. Journal of Veterinary Research, 71(4): 373-379. [In Persian]

- Minaii, E. and Araghi-Sooreh, A. (2020). Assessment of Streptococcus equi infection in apparently healthy working horses of Urmia region by indirect ELISA method. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 14(3): 219-227. [In Persian]
- Moraes, C.M., Rocha, A.S., Dummer, L.A., Junior, A.G., Nogueira, C.E., Vargas, A.P., et al. (2009). Recombinant protein M detects antibodies induced by Streptococcus equi strains isolated from cases of strangles. Veterinary Immunology and Immunopathology, 1(128): 242.
- Noormohamadzadeh, F., Abdollahpour, F.G. and Khajeh-Nasiri, S.M. (1992). Epizootiological investigation of strangles in the equine stables in Tehran. Journal of Equine Veterinary Sciences, 12(6): 401-402.
- Paillot, R., Lopez-Alvarez, M., Newton, J. and Waller, A. (2017). Strangles: A modern clinical view from the 17th century. Equine Veterinary Journal, 49(2): 141-145.
- Robinson, C., Steward, K.F., Potts, N., Barker, C., Hammond, T.A., Pierce, K., et al. (2013). Combining two serological assays optimises sensitivity and specificity for the identification of Streptococcus equi subsp. equi exposure. The Veterinary Journal, 197(2): 188-191.
- Sellon, D.C. and Long, M. (2013). Equine infectious diseases. 2nd ed., Elsevier Health Sciences, pp: 265-276.
- Sweeney, C.R., Timoney, J.F., Newton, J.R. and Hines, M.T. (2005). Streptococcus equi infections in horses: guidelines for treatment, control, and prevention of strangles. Journal of Veterinary Internal Medicine, 19(1): 123-134.
- Taylor, S.D. and Wilson, W.D. (2006). Streptococcus equi subsp. equi (Strangles) infection. Clinical Techniques in Equine Practice, 5(3): 211-217.
- Timoney, J.F. (1993). Strangles. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice, 9(2): 365-374.
- Tonpitak, W., Sornklien, C. and Wutthiwithayaphong, S. (2016). Characterization of a Streptococcus-equi ssp. equi isolate from a Strangles Outbreak in Thailand. Journal of Equine Veterinary Science, 38: 30-32.
- Webb, K., Barker, C., Harrison, T., Heather, Z., Steward, K.F., Robinson, C., et al. (2013). Detection of Streptococcus equi subspecies equi using a triplex qPCR assay. The Veterinary Journal, 195(3): 300-304.