

تعیین میزان شیوع سرولوژیک آلودگی به لپتوسپیرا در گاوداری‌های شیری اطراف تبریز

- علی حسینیپور، گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز
- مجید فرناشوند، گروه آموزش علوم دانشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
- غلامرضا عبدالله‌پور، استادیار گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
- غلامعلی مقدم، دانشیار گروه آموزشی علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
- محمدقلی نادعلیان، استاد گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
- سعید ستاری، کارشناس علوم آزمایشگاهی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: آذرماه ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: بهمن ماه ۱۳۸۴

E-mail: alihassanpour2000@yahoo.com

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی شیوع سرمی گونه‌های *Leptospire interrogans* و ارتباط آن با عوامل محیطی و حیوانی در بین گاوهای شیری شهرستان تبریز بود که به موجب آن تعداد ۲۲۹ نمونه سرمی در فاصله بهمن ماه ۸۱ لغایت آبان ماه ۸۲ جمع‌آوری گردید. سپس با آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی^۱ (MAT) و با استفاده از ۶ نوع پادگن لپتوسپیرای زنده شامل هارجو^۲، پومونا^۳، ایکتروهوموراژیه^۴، گریپوتیفوزا^۵، کنیکولا^۶ و بالوم^۷ مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج به دست آمده از آزمایش MAT معلوم ساخت که ۲۴٪ دام‌ها از لحاظ سرولوژیکی مثبت بودند. پومونا و گریپوتیفوزا به ترتیب با ۳۴٪/۲ و ۳۲٪/۹ شایع‌ترین سروتیپ‌ها بودند. بقیه موارد سرمی مثبت شامل ۲۲٪/۳ کنیکولا، ۶٪/۶ ایکتروهوموراژیه و ۳٪/۹ بالوم بود. در این بررسی هیچ یک از نمونه‌ها با سروتیپ هارجو واکنش مثبت نشان ندادند. با استفاده از روش Chi-square ارتباط آماری بین فصول مختلف بررسی گردید که طی آن بیشترین میزان آلودگی در فصل پاییز و زمستان مشاهده شد که به ترتیب ۳۲٪/۷ و ۳۴٪/۳ نمونه‌های این فصل مثبت بودند. همچنین در گاوداری‌هایی که موش در آنها مشاهده شده بود و یا دارای بستر مرطوب بودند، آلودگی سرولوژیک به مراتب بیشتر بود. بیشترین موارد مثبت در گروه سنی ۳-۴ سال قرار داشتند.

کلمات کلیدی: لپتوسپیرا، گاوهای شیری، تبریز، آگلوتیناسیون، سرولوژیک

Pajouhesh & Sazandegi No 74 pp: 67-77

Seroprevalence of leptospiral infection in dairy herds in Tabriz - Iran

By: A. Hassanpour- Clinical Science of Veterinary Faculty of Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

M. Fartashvand, Student of Large Animal Internal Medicine - Science & Research Campous - Islamic Azad University

Gh. Abdollahpour. Clinical Science of Veterinary Faculty of Tehran University. Tehran- Iran.

Gh. A. Mogaddam, Animal Science of Agriculture Faculty of Tabriz University, Tabriz- Iran.

Mg. Nadalian, Clinical Science of Veterinary Faculty of Tehran University, Tehran- Iran.

S. Sattari. Clinical Science of Veterinary Faculty of Tehran University- Tehran- Iran.

Leptospirosis is a world-wide zoonotic infection occurring in animals and human. Rodents and wildlife are a major source of infection. Clinical signs in cattle include fever, hemoglobinuria, jaundice, abortion, mastitis, reduced in milk production, reproductive failure and death. In this survey, the seroprevalence of Leptospiral infection in dairy herds and the relationship between seroprevalence and animal and environmental factors in Tabriz were investigated. 229 serum samples randomly collected from herds since December 2002 to November 2003. Sera were tested by MAT using live *Leptospira interrogans* serovars: Hardjo, pomona, icterohaemorrhagiae, grippityphosa, canicola and ballum. Twenty four percent of sera were seropositive against one or more of studied serovars. Pomona and grippityphosa were detected as the most-prevalent serovars with 34.2% and 32.9% respectively. All of sera were seronegative for hardjo. The Chi-square method used for seasonal tend of seroconversion against this serovars. The risk of seroprevalence against leptospira was significantly higher in winter and autumn. In farms, where rodents had been observed, and or moisture were high, the seroprevalence was higher than others. Also most seropositive cases were observed in 3-4 years old cows. According to presence of serological infection in dairy herds, use of prevention factors were suggested.

Keywords: Seroprevalence, Leptospira, Dairy, Tabriz, MAT.**مواد و روش کار**

در این تحقیق که از بهمن ماه ۱۳۸۱ لغایت آبان ماه ۸۲ به طول انجامید، جمعاً ۲۲۹ نمونه خونی از گاوداری‌های اطراف شهر تبریز جمع آوری شد که ۷۴٪ آنها متعلق به واحدهای صنعتی، ۳۴٪ واحدهای نیمه صنعتی و ۱۱٪ مربوط به واحدهای سنتی بود. جهت نمونه گیری، گاوهای ماده انتخاب می‌شدند و در مورد هر واحد دامداری از ۱۰ درصد گله و بطور تصادفی خونگیری می‌شد. موضع خونگیری اغلب ورید دمی و در پاره‌ای موارد ورید وداجی بود که با استفاده از لوله ونوجکت خلاءدار از حیوان خونگیری به عمل می‌آمد. همزمان با اخذ نمونه، اطلاعاتی در مورد خود دام و واحد دامداری از مسئول و کارکنان دامداری کسب شده و پرسشنامه مربوطه تکمیل میگردید.

فردای روز خونگیری در آزمایشگاه، سرم از خون‌های لخته شده جدا میگردید و سپس در منفی ۲۰ درجه سانتیگراد فریز می‌شدند. در آخر هر فصل نمونه‌ها به صورت فریز به آزمایشگاه تحقیقاتی لیتوسپیروز در بیمارستان آموزشی پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل می‌شدند. در آزمایشگاه با روش آگلوتیناسیون میکروسکوپی (MAT)

مقدمه

لیتوسپیروز یک بیماری عفونی مشترک بین انسان و دامها است که توسط اسپروکت‌های مارپیچی و فنی شکل لیتوسپیرا ایجاد می‌شود (۳). لیتوسپیراها را از لحاظ DNA باکتری به گونه‌های ژنومی و بر اساس پادگن‌های سطحی به سرگروه‌ها تقسیم میکنند (۲۷). در حال حاضر بیش از ۲۵۰ سرورایت در ۲۳ سرگروه متعلق به ۱۰ گونه ژنومی شناخته شده است (۲۶).

این بیماری انتشار جهانی دارد و تقریباً در تمام کشورهای جستجو کرده‌اند، آنرا یافته‌اند (۸، ۱۹). در هر محدوده جغرافیایی سروتیپ‌های مشخصی از لیتوسپیراها شایع هستند (۲۵) که به عوامل محیطی و میزان بستگی دارد (۳). میزبانان مخزن و نگهدارنده در بقاء جرم و اشاعه بیماری اهمیت زیادی دارند؛ چراکه اکثر سرورایت‌ها با یک یا چند میزبان نگهدارنده سازگاری یافته‌اند (۲۳، ۲۷، ۲۸). جوندگان معمولترین حامل لیتوسپیروها هستند و حیوانات وحشی در مقام دوم قرار دارند (۲۴) ولی گاه حیوانات اهلی نیز به عنوان مخزن مطرح می‌شوند (۲۵). به عنوان مثال ایکتره‌موراژیه، گریپوتیفوزا و بالوم در جوندگان و موش صحرایی، هارجو در گاو، کنیکولا در سگ و براتیسلاوا^۱ در خوک و اسب جدا شده است (۱۷، ۲۷). منابع عفونت شامل ادرار آلوده، جنین سقط شده، ترشحات رحمی، منی گاو نر مبتلا، شیر و آبهای راکد می‌باشند (۱۸، ۲۰، ۲۴، ۲۷، ۲۸). بیماری لیتوسپیروز در گاو به سه شکل حاد، تحت حاد و مزمن بروز میکند (۱۸، ۲۸).

روی آن، داخل بوآت گذاشته می‌شود. برای جلوگیری از خشک شدن و تبخیر قطره (مخلوط پادگن و سرم) چند قطره آب مقطر داخل بوآت ریخته، به اندازه‌ای که مقداری از کاغذ جاذب الرطوبه خیس شود (تصویر ۳).
با توجه به نتایج مطالعات سرولوژیکی که قبلاً در ایران انجام شده (۹، ۱۰) و به منظور صرفه‌جویی در مصرف محیط کشت و نیز تسریع در انجام آزمایش، در بررسی حاضر از شش سروتیپ مختلف لپتوسپیرا به نامهای گریپوتیفوزا، یومونا، ایکتره‌موراژی، کنیکولا، بالوم و هارجو استفاده شد.

مراحل انجام آزمایش MAT

نکته بسیار مهمی که در هنگام آزمایش MAT همواره باید مدنظر باشد، رعایت دقیق دستورات بهداشتی و ایمنی است؛ بدین منظور کار با میکروب زنده حتماً در مقابل شعله انجام میگرفت. کلیه وسایل، لوله‌های آزمایش، پیت‌های آلوده، لام‌های آلوده و نیز سرسمپلرها بلافاصله پس از مصرف در یک ظرف بزرگ محتوی محلول ضدعفونی کننده (محلول رقیق ساون) غوطه‌ور می‌شدند. سرسمپلرهای مورد استفاده یکبار مصرف بوده و بعد از هر بار استفاده داخل محلول ضدعفونی کننده انداخته می‌شدند.

در بررسی حاضر، آزمایش MAT بر اساس پیشنهاد WHO با کمی تغییرات به شرح زیر صورت گرفت:

الف) به کمک سمپلر مخصوص مقدار ۱۰ میکرولیتر از پادگن مورد نظر برداشته و در مرکز هر یک از ۸ مربع روی لام میکروسکوپ تخلیه می‌شد. (ب) با همان روش مقدار ۱۰ میکرولیتر از رقت ۱/۵۰ نمونه سرمی برداشته و در مجاورت قطره پادگن تخلیه شده و همزمان با پادگن به طور یکنواخت و با دقت مخلوط میگردد، به نحوی که قطره از محدوده مربع مورد نظر خارج نگردد. (تصویر شماره ۲-۲). به منظور اجتناب از اختلاط نمونه‌های سرمی، برای برداشت از هر نمونه، از سرسمپلر جداگانه استفاده می‌شد.

ج) در هر روز از آزمایش به منظور کنترل صحت آزمایش سه نوع شاهد بدین شرح تهیه می‌شد: شاهد مثبت (سرم استاندارد مثبت)، شاهد منفی (سرم استاندارد منفی) و شاهد سوم که به منظور کنترل آگلوتیناسیون خودبخودی^۹ در آن بجای سرم از محلول رقیق کننده استفاده می‌شد.

د) لام‌ها در بوآت‌های مخصوصی همراه با کاغذ جاذب الرطوبه که قبلاً

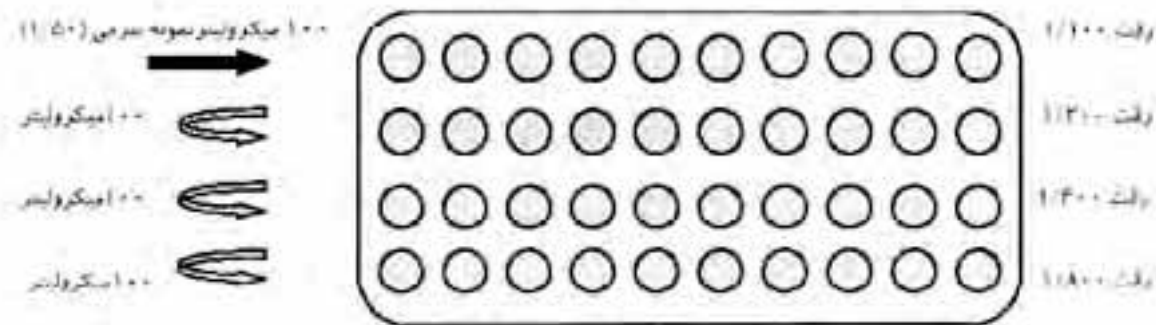
پس از اینکه نمونه‌ها از انجماد خارج شدند تست انجام میگرفت. یک روز قبل از شروع آزمایش MAT رقت ۱/۵۰ از تمامی نمونه‌هایی که لازم بود تست شوند، تهیه میگردد. برای اینکار از میکروتیوب استفاده می‌شد؛ بدین صورت که در داخل هر یک از میکروتیوب‌ها به میزان ۴۹۰ میکرولیتر از محلول رقیق کننده (تهیه شده از EMJH base) ریخته می‌شد، سپس با افزودن ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه سرمی به داخل هر کدام از میکروتیوب‌ها و مخلوط کردن آنها بطور یکنواخت، رقت ۱/۵۰ به دست می‌آمد.
برای تهیه رقت‌های ۱/۱۰۰، ۱/۲۰۰، ۱/۴۰۰ و ۱/۸۰۰ بدین صورت عمل می‌شد:

برای این کار از پلیت ایزا استفاده می‌شد. به کمک سمپلر داخل هر یک از گوده‌ها به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رقیق کننده ریخته می‌شد. سپس از رقت ۱/۵۰ نمونه سرمی، ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و داخل گوده اول ریخته و با نوک سرسمپلر خوب مخلوط می‌شد، بدین ترتیب رقت ۱/۱۰۰ در گوده اول تهیه می‌شد. به همین شکل از گوده اول ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و داخل گوده دوم ریخته می‌شد که گوده دوم رقت ۱/۲۰۰ پیدا میکرد. این کار را تا گوده چهارم ادامه داده و در پایان میتوان ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط گوده چهارم را برداشته و بیرون ریخته و با میتوان این کار را انجام نداد. در نهایت چهار رقت ۱/۲۰۰، ۱/۴۰۰، ۱/۸۰۰ و ۱/۱۶۰۰ به دست می‌آمد (تصویر ۱).

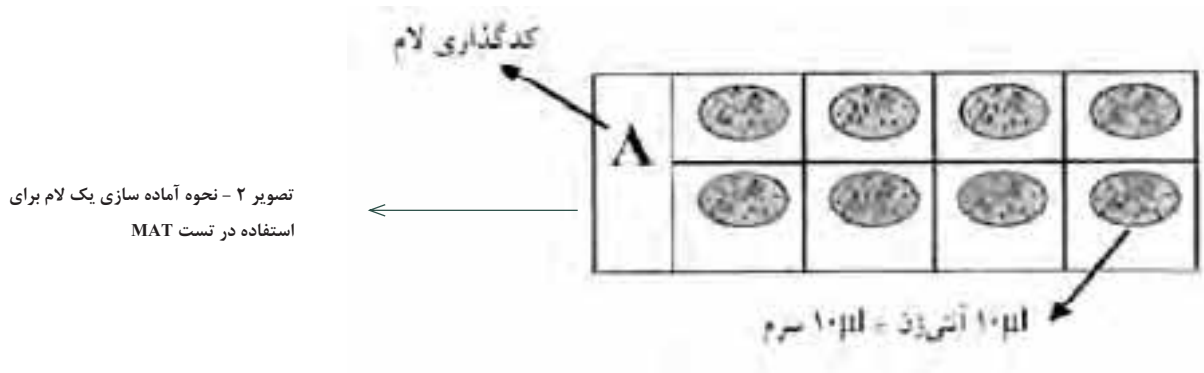
لازم به یادآوری است با توجه به اینکه در آزمایش MAT، مقدار هم حجم سرم رقیق شده پادگن بر روی لام اضافه می‌شود، لذا رقت نهایی هر نمونه سرمی دو برابر می‌شود. بنابراین حداقل رقتی که در این بررسی مثبت تلقی می‌شد ۱/۱۰۰ بود.

برای اینکه از یک لام میکروسکوپ بیشترین استفاده برده شود، سطح هر لام به وسیله یک خط‌کش و یک قلم الماسه به ۸ مربع کوچک تقسیم می‌شد. بدین صورت که چهار مربع در بالا و چهار مربع در پایین قرار میگرفت و نیز یک قسمتی را در سمت چپ لام برای کدگذاری مشخص میکردیم. (تصویر ۲).

برای تهیه محیط مرطوب ابتدا یک بوآت تمیز برداشته، درب آن را باز کرده و داخل آن یک تکه کاغذ جاذب الرطوبه قرار داده، سپس دو میله شیشه‌ای به طول حدوداً ۵ سانتی‌متر جهت قرار دادن لام میکروسکوپ بر



تصویر ۱- نحوه تهیه رقت‌های مختلف سرمی



تصویر ۲ - نحوه آماده سازی یک لام برای استفاده در تست MAT

مشاهده می شود.

بر اساس استاندارد WHO نمونه هایی که آگلوتیناسیون آنها در حد 1^+ بودند، منفی تلقی شدند. تنها نمونه های 4^+ مثبت منظور می شدند و بقیه موارد به حساب موارد مشکوک گذاشته می شدند.

نتایج

از مجموع ۲۲۹ نمونه سرمی، ۵۵ نمونه با یک یا بیش از یک سروتیپ واکنش مثبت نشان داد که فراوانی نسبی آن معادل ۲۴٪ برآورد شد. ۱۷۴ نمونه نیز از لحاظ سرولوژیکی منفی بودند، که معادل ۷۶٪ نمونه ها می باشد (نمودار ۱).

از مجموع ۵۵ نمونه سرمی مثبت، ۷ مورد به فصل بهار، ۷ مورد به فصل تابستان، ۱۷ نمونه به فصل پاییز و ۲۴ نمونه به زمستان اختصاص داشت (نمودار ۲). در نمودار ۴ فراوانی نسبی سروتیپ های مختلف لپتوسپیرا در کل سال و مشخص شده است. در کل نمونه ها ۳۴٪ با پومونا، ۳۲٪ با گریپوتیفوزا، ۲۲٪ با کنیکولا، ۶٪ با ایکتره موراژیه و ۲٪ با سروتیپ بالوم واکنش مثبت نشان دادند. لازم به ذکر است که هیچ یک از نمونه ها بر علیه سروتیپ هارجو تیترا قابل تشخیصی نداشتند.

توضیح داده شد با احتیاط قرار داده شده، سپس به مدت ۹۰ دقیقه در انکوباتور 30°C درجه نگهداری می شدند.

لام ها پس از طی زمان فوق از انکوباتور خارج نموده و با کمک میکروسکوپ زمینه تاریک با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر مورد بررسی قرار میگرفت. در صورت مشاهده آگلوتیناسیون در هر یک از نمونه ها، ضمن یادداشت کردن شماره نمونه در برگه ثبت نتایج، میزان آگلوتیناسیون در هر نمونه به شرح زیر از 1^+ تا 4^+ درجه بندی می شدند:

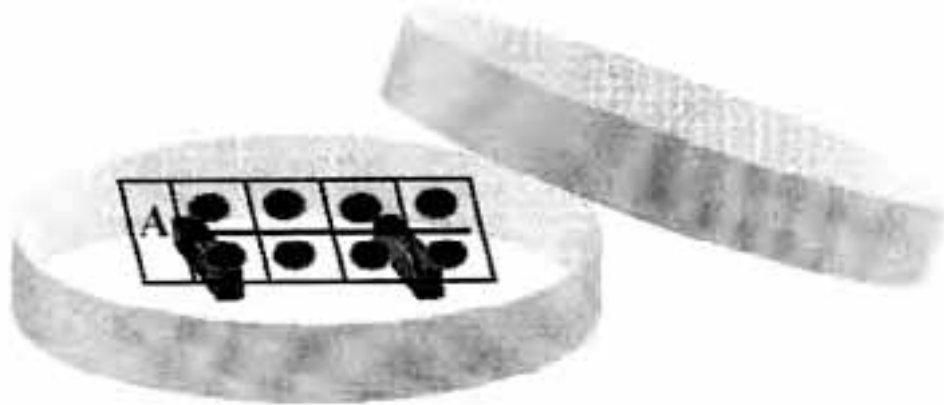
1^+ : ۲۵٪ اجرام لپتوسپیرایی آگلوتینه شده و ۷۵٪ آنها متحرک و آزاد هستند.

2^+ : ۵۰٪ اجرام لپتوسپیرایی آگلوتینه شده و ۵۰٪ آنها متحرک و آزاد هستند.

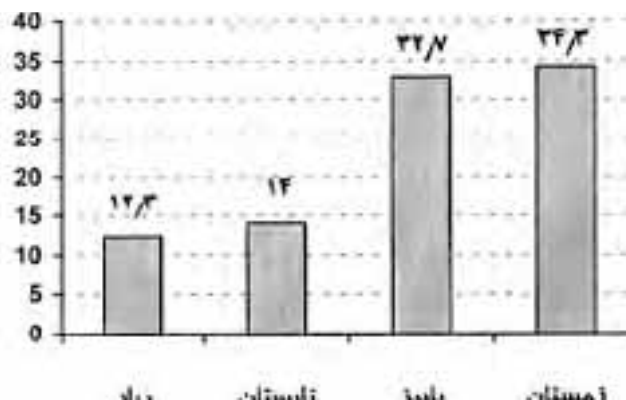
3^+ : ۷۵٪ اجرام لپتوسپیرایی آگلوتینه شده و ۲۵٪ آنها متحرک و آزاد هستند.

4^+ : اکثر قریب به اتفاق اجرام لپتوسپیرایی آگلوتینه شده اند (حدود ۱۰۰٪).

منفی: هیچ آگلوتیناسیونی مشاهده نشده و اجرام لپتوسپیرایی مانند شاهد منفی به صورت زنده و فعال در زیر میکروسکوپ زمینه تاریک



تصویر ۳: محیط مرطوب جهت نگهداری لام ها در انکوباتور



نمودار ۳: توزیع فراوانی نسبی موارد سرمی مثبت در فصول مختلف سال

مثبت گزارش نشدند (نمودار ۱۲). در بین گروه گاوان بدون تولید فراوانی نسبی موارد مثبت در گاوهای خشک ۸۵/۷۱٪ و در تلیسه‌ها ۲۲/۲۲٪ برآورد شد (نمودار ۱۱). فراوانی نسبی موارد مثبت در بین نمونه‌های اخذ شده از واحدهای دارای موش ۳۰/۴۶٪ و در مورد واحدهای فاقد موش ۱۵/۸۴٪ برآورد گردید (نمودار ۱۴ و ۱۵). در نمودار ۱۳ توزیع فراوانی نسبی موارد سرمی مثبت بر حسب سن دام‌ها آورده شده است.

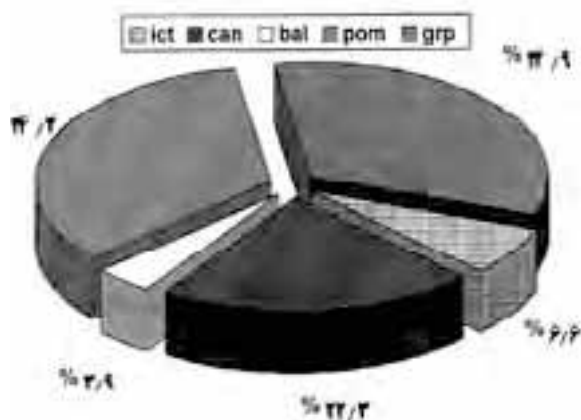
بحث

نتایج بدست آمده از بررسی حاضر نشان می‌دهد که از کل نمونه‌ها، ۲۴٪ دام‌ها از نظر سرولوژیکی واکنش مثبت نشان دادند. مطالعات مشابهی که در سایر مناطق کشور انجام گرفته است نیز نشانگر آلودگی نسبتاً بالای گاوها می‌باشد. چنانچه در طی اولین مطالعه گسترده در ایران که در سال ۱۳۳۶ صورت گرفت، ۳۰۰۰ رأس گاو و گوسفند از لحاظ سرولوژیکی

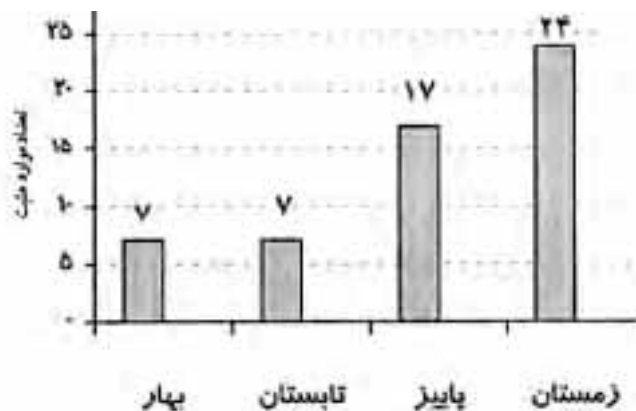


نمودار ۱: توزیع فراوانی نسبی موارد سرمی مثبت و منفی در کل دام‌ها

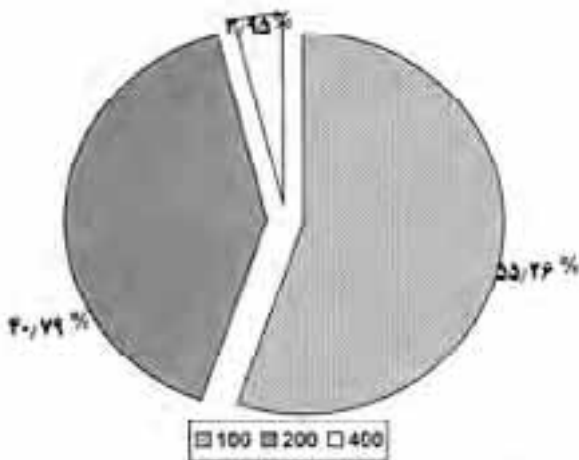
در این بررسی از کل موارد مثبت، ۵۵/۲۶٪ به تیتراژ ۱۰۰، ۴۰/۷۹٪ به تیتراژ ۲۰۰ و ۲/۹۵٪ موارد به تیتراژ ۴۰۰ تعلق داشت (نمودار ۵). از کل ۲۲۹ نمونه سرمی، ۱۶۹ نمونه به گاوداری‌های صنعتی، ۳۴ نمونه به گاوداری‌های نیمه صنعتی و ۲۵ مورد به واحدهای سنتی تعلق داشت. در بین دامپروری‌های صنعتی ۴۳ مورد مثبت و ۱۲۶ مورد منفی وجود داشت، در حالیکه در مورد گاوداری‌های نیمه صنعتی ۹ نمونه مثبت و ۲۵ نمونه منفی بودند. در واحدهای سنتی ۳ نمونه مثبت و ۲۲ نمونه منفی گزارش گردید (نمودار ۷ و ۹). ۱۷ مورد سابقه سقط جنین داشتند که از این میان ۵۹٪ مثبت و ۴۱٪ منفی بودند (نمودار ۹). ۷۰/۹۹٪ نمونه‌های سرمی با یک سروتیپ، ۲۰٪ با دو سروتیپ و ۹/۱٪ با سه سروتیپ واکنش مثبت نشان دادند (نمودار ۱۰). از میان موارد سرمی مثبت، ۱۶/۶۶٪ در گاوهای با تولید کمتر از ۲۰ کیلوگرم شیر، ۴۰/۸۱٪ در گاوهای با تولید ۲۰ تا ۲۹ کیلوگرم، ۱۶/۹۶٪ در گاوهای با تولید ۳۰ تا ۳۹ کیلوگرم و ۱۹/۰۴٪ در گاوهای با تولید شیر ۴۰ تا ۴۹ کیلوگرم قرار داشت. هیچ یک از دام‌های با تولید شیر بیش از ۵۰ کیلو



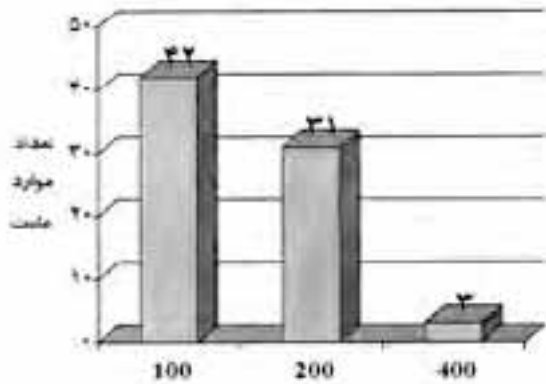
نمودار ۴: توزیع فراوانی نسبی سروتیپ‌های مختلف لپتوسپیرو در کل دام‌ها



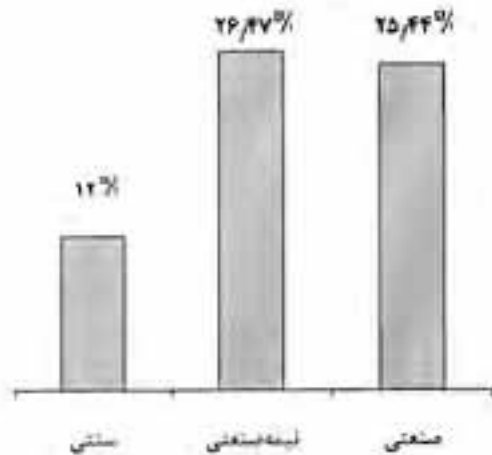
نمودار ۲: توزیع فراوانی مطلق موارد سرمی مثبت در فصول مختلف سال



نمودار ۵: توزیع فراوانی نسبی تیتر پادتنی در کل دامها



نمودار ۶: توزیع فراوانی مطلق تیتر پادتنی در کل دامها



نمودار ۷: توزیع فراوانی نسبی موارد سرمی مثبت برحسب نحوه نگهداری

بررسی شدند که طبق آن ۳۱٪ گاوان و ۱۷٪ گوسفندان آلوده تشخیص داده شدند (۵). در بررسی دیگری در سال ۱۳۵۶ که در مورد ۲۰۹۷ نمونه سرمی گاو انجام گرفت، میزان آلودگی ۲۴/۶٪ گزارش گردید (۱۲). طی سالهای ۶۴ تا ۶۵ از ۱۴۲ نونه سرمی بررسی شده که شامل ۱۱۷ نمونه سرمی متعلق به سگهای ارجاع شده به بیمارستان دامپزشکی تهران و ۲۵ نمونه سرمی از گاوان مشکوک به لپتوسپیروز بود، ۸ راس گاو (۳۲٪) مثبت و ۶ نمونه (۲۴٪) مشکوک ارزیابی شدند (۷). در سال ۱۳۶۹ بررسی ۷۳۵ نمونه سرمی متعلق به گاوان اطراف تهران نشان دهنده ۳۱/۲٪ موارد مثبت بوده است (۱۰). در سال ۱۳۷۳ میزان آلودگی گاوها در استان آذربایجان شرقی ۴۸/۵٪ بوده است (۵). مطالعه گستردهای که طی سالهای ۷۲-۷۴ در نقاط مختلف کشور انجام گرفت، از ۱۸۰۸ نمونه سرمی اخذ شده ۱۳۶۵ مورد (۷۵٪) مثبت بودند (۱۵). در همین ایام (۷۲-۷۳) آزمایشات سرولوژیکی انجام گرفته روی ۱۳۰ نمونه سرمی اخذ شده از ۷۱ راس دام مشکوک به لپتوسپیروز و ۱۶ راس گاو در تماس با گاوان مشکوک، در شهرستان ارومیه، نشانگر آلودگی ۶۳/۵٪ در دامهای مشکوک و ۳۲/۵٪ در دامهای در معرض تماس بود (۱). بررسی جامعی که در سالهای ۷۴-۷۶ در ارومیه در مورد ۱۰۸۷ نمونه سرمی اخذ شده از حیوانات مختلف شامل گاو، گوسفند و بز انجام شد، میزان آلودگی را به ترتیب ۴۲/۵٪، ۴۲/۶٪ و ۵/۵٪ در گاو، گوسفند و بز اعلام داشت (۴). در مطالعه‌ای که طی سالهای ۷۶ الی ۷۸ در مورد ۱۰۰۰ نمونه سرمی از دامهای مشکوک به لپتوسپیروز در استان مازندران انجام گرفت، ۱۱/۶٪ آلوده بودند (۱۴). بررسی انجام شده در سال ۱۳۸۰ در مورد گاوداری‌های تهران حکایت از آلودگی ۴۶/۸٪ گاوها دارد (۹). در همین سال بررسی سرولوژیکی ۵۳۵ نمونه در شیراز نشان داد که ۱۳۰ نمونه (۲۴/۳٪) واجد عیار پادتن سرمی بودند (۱۱). از ۴۰۰ نمونه سرمی تهیه شده از گاوداری‌های صنعتی و سنتی شهرکرد در سال ۱۳۸۱، ۱۸/۷۵٪ مثبت تشخیص داده شدند (۱۳). در مطالعه دیگری که در مورد ۳۸۹ نمونه سرم گاو در مشهد اجرا شد، بررسیهای سرمی نشان داد که ۲۳/۹٪ نمونه‌ها واکنش مثبت نشان دادند (۶). بررسی مشابهی که اخیراً در مورد ۶۴۵ راس از گاوهای اهواز انجام گرفته نشان داد که ۵۳/۷۵٪ دامها واجد پادتن سرمی بودند (۲).

مطالعات سرولوژیکی متعددی نیز در کشورهای مختلف جهان در مورد بیماری لپتوسپیروز صورت گرفته است و اکثراً نشان دهنده درصد بالای آلودگی در دامها می‌باشند. در مطالعه سرولوژیکی عفونت لپتوسپیروزی در بین گاوهای شیری در اسپانیا (۹۷-۱۹۹۶) از مجموع ۴۴۲ نمونه سرمی، ۱۸/۳۳٪ موارد مثبت بودند (۲۱). در مطالعه دیگری که در سال ۱۹۹۶ و در همین کشور و در مورد گاوهای شیری و گوشتی انجام گرفت، نتایج حاصله نشانگر آلودگی ۸٪ گاوها و ۴۳٪ گله‌ها بود (۱۶). در یک بررسی مشابه که در کشور برزیل و در مورد ۳۷۹ نمونه خونی انجام گرفت، ۴۶/۹٪ گاوها از لحاظ سرمی واکنش مثبت نشان دادند (۲۲).

این بررسی نشان داد که میزان آلودگی در فصل بهار ۱۲/۳٪، فصل تابستان ۱۴٪، فصل پاییز ۳۲/۷٪ و فصل زمستان ۳۴/۳٪ بود. بیشترین درصد موارد مثبت مربوط به فصل زمستان و پاییز می‌باشد که احتمالاً این امر به خاطر بارندگیهای فراوان و میزان بالای رطوبت در این فصول و نیز تراکم بیشتر دامها در طویله می‌باشد (۳، ۲۸). برخی منابع بیشترین موارد بیماری را به فصل زمستان نسبت می‌دهند که با نتایج حاصله از این بررسی

مطابقت دارد (۳). اما برخی منابع دیگر بیشترین آلودگی را در فصول تابستان و اوائل پاییز می‌دانند (۲۹). در مطالعه‌ای هم که در اسپانیا (۹۷-۱۹۹۶) انجام گرفت، بیشترین میزان وقوع بیماری در این کشور فصل بهار بوده است (۲۱). احتمالاً این اختلاف ناشی از تنوع آب و هوایی در مناطق جغرافیایی گوناگون می‌باشد؛ چرا که در مناطق گرمسیری و پرباران، بیماری در فصول دیگر از جمله تابستان نیز شایع است (۲۹).

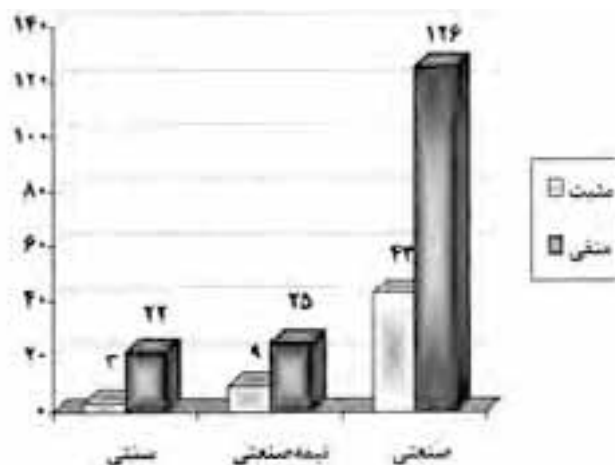
با استفاده از آنالیز آماری داده‌های بدست آمده از این بررسی با استفاده از روش Chi-Square مشخص گردید که بین فصل و آلودگی سرولوژیک در دام‌های تحت مطالعه ارتباط وجود دارد. چنانچه در مقایسه دوه‌دو فصول، اختلاف بین فصول بهار و پاییز ($P < 0/01$)، بهار و زمستان ($P < 0/005$)، تابستان و پاییز ($P < 0/05$)، تابستان و زمستان ($P < 0/005$) و پاییز و زمستان ($P < 0/05$)، معنی‌دار بوده ولیکن اختلاف بین فصول بهار و تابستان غیرمعنی‌دار بود.

نتایج این بررسی نشان داد که سروتیپ‌های غالب در منطقه شامل پومونا (۳۴/۲٪) و گریپوتیفوزا (۳۲/۹٪) و بعد از آن کنیکولا (۲۲/۳٪) بودند. از بین سایر سروتیپ‌ها نیز ایکتره‌هموراژیه ۶/۶٪ و بالوم ۳/۹٪ موارد مثبت را شامل می‌شدند. در این تحقیق هیچ یک از نمونه‌ها با هارجو واکنش مثبت نشان ندادند.

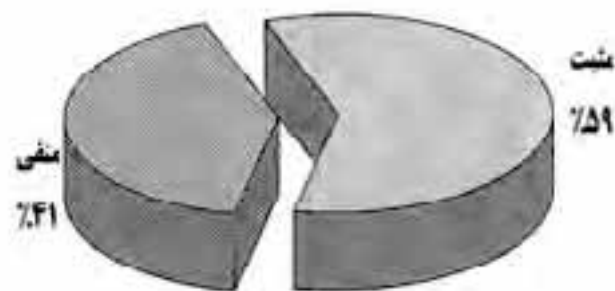
از آنجایی که نقش جوندگان به عنوان میزبان بقاء و مخزن سروتیپ گریپوتیفوزا ثابت شده است و از سوی دیگر چون در اکثر گاوداری‌های تحت مطالعه وجود جوندگان محرض شده بود؛ از این رو شیوع بالای این سروتیپ را بدین شکل میتوان توجیه کرد. ضمناً در گاوداری‌هایی که گربه نگهداری می‌کردند، به‌طور قابل ملاحظه‌ای آلودگی با این سرور کمتر بود. همچنین چون از سگها به عنوان سگ نگهبان در تمام گاوداری‌ها استفاده می‌شد، بالطبع میزان برخورد دام‌ها با میزبان مخزن سروتیپ کنیکولا افزایش مییابد که حاصل آن ایجاد پادتن در دام خواهد بود. از طرف دیگر سگها با شکار جوندگان و خوردن آنها در انتشار عفونت نقش دارند.

در مطالعه دیگری که در سال ۱۳۷۳ در استان آذربایجان شرقی و تبریز انجام گرفته بود، نتایج حکایت از فراوانی نسبی سروتیپ گریپوتیفوزا داشت که حدود ۴۱/۶۶٪ موارد مثبت مربوط به این سروتیپ بودند. سایر سرورها نیز به ترتیب ایکتره‌هموراژیه ۲۹/۱۶٪، کنیکولا ۱۶/۱۶٪، پومونا ۱۰/۴۱٪ و هارجو ۲/۰۸٪ موارد مثبت را تشکیل می‌دادند در این مطالعه نیز فقط یک مورد مثبت در مورد سروتیپ هارجو وجود داشت (۵). علیرغم گزارشات فراوانی که در مورد شیوع سروتیپ هارجو در جمعیت گاوی ایران و جهان وجود دارد (۹، ۱۰، ۱۸، ۲۸) در بررسی حاضر هیچ مورد مثبتی نسبت به این سرور وجود نداشت. این مطلب را این چنین می‌توان توجیه نمود که شاید چون سروتیپ هارجو به عنوان سروتیپ سازگار یافته به گاو می‌باشد و در دستگاه تناسلی دام‌های آبستن و غیرآبستن جایگزین می‌شود. چنانچه اغلب گاوهای آلوده به سرور هارجو تیترا پادگن کمتر از رقت آغازین (۱:۱۰۰) دارند و بدون آنکه تیترا پادتنی قابل تشخیصی ایجاد کند، منفی گزارش می‌شوند (۲۵).

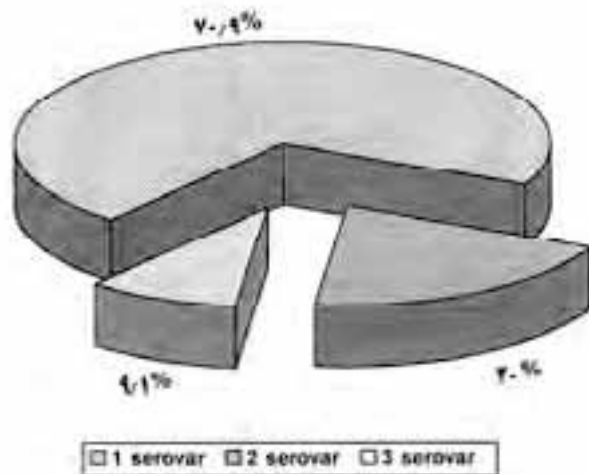
در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۳۶ توسط مقامی انجام گرفت، سروتیپ‌های غالب به ترتیب گریپوتیفوزا، پومونا و ایکتره‌هموراژیه بودند. در مطالعه دیگری در سال ۱۳۵۶ در مورد گاوهای اطراف تهران سروتیپ غالب *L. barincana* از سرورگروه هبدوامدیس گزارش گردید



نمودار ۸: توزیع فراوانی مطلق موارد سرمی مثبت و منفی برحسب نحوه نگهداری



نمودار شماره ۹: توزیع فراوانی نسبی موارد سرمی مثبت برحسب سابقه سقط جنین

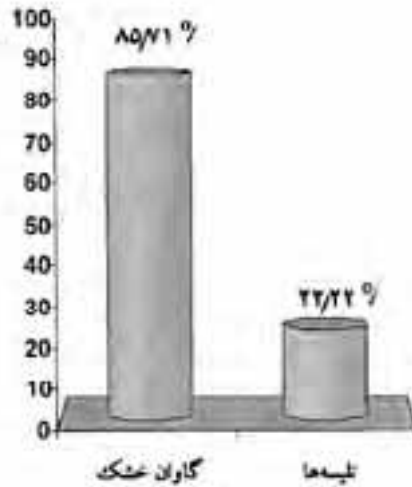


نمودار شماره ۱۰: توزیع فراوانی نسبی موارد سرمی مثبت برحسب تعداد سرورارینه

سرولوژیکی در مورد گاوهای اهواز شایع ترین سروار را گریپوتیفوزا با فراوانی ۳۰/۰۷٪ معرفی نمود و سویه های پومونا (۱۸/۳۳٪)، کنیکولا (۱۵/۵۳٪)، حارج (۱۴/۳۵٪)، ایکترهومورائیه (۱۱/۵۵٪) و بالوم (۱۰/۱۶٪) در رده های بعدی قرار داشتند (۲).

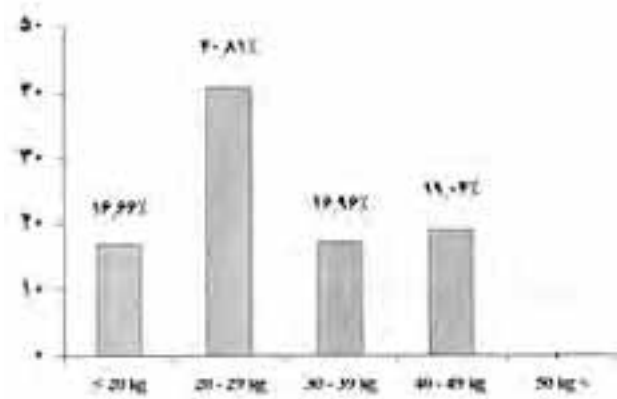
گزارشات زیادی از فراوانی این سروتیپ ها و سروتیپ های دیگر در سایر نقاط جهان وجود دارد. به طوریکه در مطالعه ای در اسپانیا (۱۹۹۶) سروارایته براتیسلاوا، سروتیپ غالب در منطقه تحت مطالعه گزارش گردید (۱۶). در بررسی دیگری در همین کشور (۹۷-۱۹۹۶) سروتیپ های براتیسلاوا و گریپوتیفوزا به ترتیب با ۷/۹۲٪ و ۷/۶۱٪ سروتیپ های غالب ناحیه را تشکیل دادند (۲۱).

از کل ۲۲۹ نمونه اخذ شده در این مطالعه، ۱۶۹ نمونه به واحدهای صنعتی، ۳۴ نمونه به واحدهای نیمه صنعتی و ۲۵ نمونه به واحدهای سنتی تعلق داشت. در بین نمونه های اخذ شده از واحدهای صنعتی، ۲۵/۴۴٪ و در بین نمونه های اخذ شده از واحدهای نیمه صنعتی، ۲۶/۴۷٪ و در بین نمونه های اخذ شده از واحدهای سنتی، ۱۲٪ موارد مثبت بودند. در مطالعات دیگری که در سایر نقاط ایران انجام گرفته است، نتایج مشابهی حاصل شده است. چنانچه در سال ۱۳۶۹ درصد آلودگی در دامپروری های صنعتی در شهرستان کرج بیش از واحدهای سنتی بود (۱۰) و در سال ۱۳۸۰ میزان آلودگی سرولوژیک دامداری های صنعتی در شهر تهران ۱/۲٪ و در واحدهای سنتی ۴/۴۷٪ اعلام شد (۹). این آمار و ارقام نشان دهنده درصد بالای آلودگی سرولوژیکی در دامداری های صنعتی می باشد، در حالی که انتظار می رود که میزان آلودگی در دامداری های صنعتی کمتر از واحدهای سنتی باشد. این امر شاید خود بیانگر این نکته باشد که در دامداری های صنعتی تحت مطالعه علاوه بر تراکم بیشتر دام ها، اصول و موازین بهداشتی که ضامن کنترل و پیشگیری بسیاری از بیماری های واگیر می باشد، شاید کمتر مورد توجه قرار می گیرد. در بررسی حاضر از کل نمونه های اخذ شده، ۵۷٪ نمونه ها مربوط به

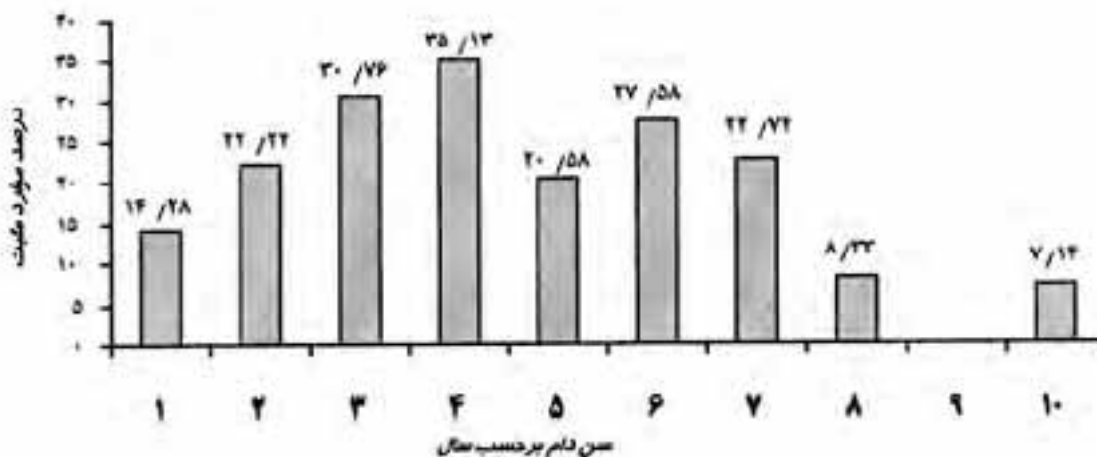


نمودار ۱۱: توزیع فراوانی نسبی موارد مثبت در بین گاوهای بدون تولید

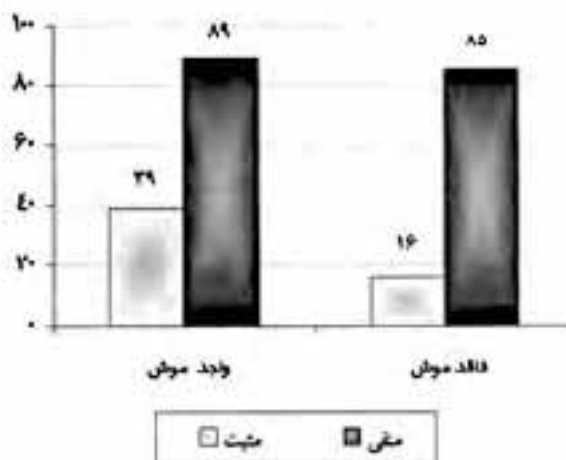
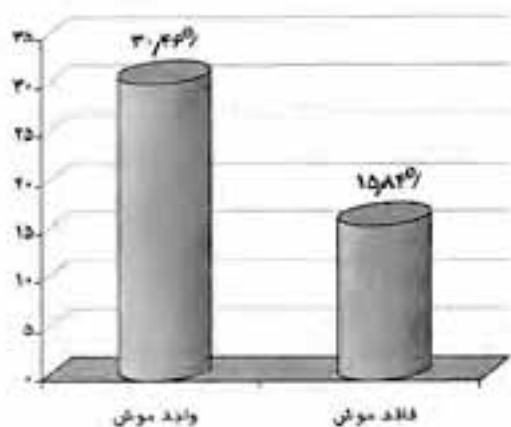
(۱۲). سروتیپ غالب در بررسی سرواپیدمیولوژی صورت گرفته به سال ۶۴-۶۵ در تهران، گریپوتیفوزا (۳۷/۵٪) بود و ایکترهومورائیه ۲۵٪، بالوم ۲۵٪ و کنیکولا ۱۲/۵٪ موارد مثبت را شامل می شدند (۷). طبق مطالعات سرولوژیکی انجام گرفته در ارومیه طی سالهای ۷۲-۷۳ شایعترین سروتیپ گریپوتیفوزا با فراوانی ۳۳/۶٪ گزارش گردید؛ سروتیپ های دیگر شامل پومونا ۱۴/۹٪، هارجو سرجو ۱۴/۷٪، کوپنهاگنی ۱۱/۵٪، ایکترهومورائیه ۸٪ و کنیکولا ۲/۴٪ موارد مثبت را تشکیل می دادند (۱). مطالعه دیگری که در سالهای ۷۲-۷۴ در نقاط مختلف ایران انجام گرفت، سروتیپ غالب در سطح کشور ایکترهومورائیه (۲۵/۲۱٪) بود و سروتیپ های کنیکولا ۲۰/۰۵٪، گریپوتیفوزا ۱۹/۵۸٪، پومونا ۱۲/۲٪ و هارجو سرجو ۱۰/۹۳٪ در رده های بعدی قرار داشتند. با آنالیز آمار مربوط به شهرستان تبریز در این مطالعه فراوانی سروتیپ ها به ترتیب ایکترهومورائیه ۳۰/۲۳٪، کنیکولا ۲۹/۹۴٪، پومونا ۱۴/۵۳٪، هارجو سرجو ۱۳/۳۷٪ و گریپوتیفوزا با ۱۱/۹۱٪ به دست آمد (۱۵). نتایج حاصل از مطالعه ای جامع در ارومیه به سال ۷۴-۷۶، شایعترین سروتیپ را در گاو گریپوتیفوزا با فراوانی ۲۵/۲٪ اعلام داشت و سروتیپ های دیگر را هارجو سرجو ۱۴/۱٪، کنیکولا ۱۲/۶٪ و پومونا ۱۰/۵٪ تشکیل می دادند (۴). بررسی انجام شده در استان مازندران به سال ۷۶-۷۸ شایعترین سروتیپ را ایکترهومورائیه (۳۸٪) معرفی نمود و کمترین فراوانی مربوط به کنیکولا (۲۹/۳٪) و سروتیپ گریپوتیفوزا ۳۲/۶٪ موارد را شامل می شد (۱۴). نتایج بررسی دیگری در تهران به سال ۱۳۸۰ نشانگر غالب بودن سروتیپ کنیکولا (۳۹/۹٪) بود و سایر سروتیپ ها از جمله بالوم ۲۵٪، گریپوتیفوزا ۲۴/۳٪، پومونا ۶/۱٪ و هارجو ۴/۷٪ در رتبه های بعدی بودند (۹). در همین سال در شیراز سروتیپ غالب ایکترهومورائیه با ۳۷/۷٪ تعیین گردید و سروتیپ های کنیکولا و گریپوتیفوزا نیز به ترتیب ۳۳/۸٪ و ۷/۷٪ موارد را تشکیل می دادند (۱۱). در سال ۱۳۸۱ سروتیپ غالب در گاوداری های شهرکرد کنیکولا با ۵۰/۶٪ بود و پومونا کمترین فراوانی (۴٪) را داشت (۱۳). در مطالعه مشابهی که در مورد گاوداری های مشهد انجام گرفت، سروتیپ های غالب ایکترهومورائیه با ۳۳/۸۵٪ و گریپوتیفوزا با ۲۵/۹۸٪ بودند (۶). نتایج حاصل از بررسی



نمودار ۱۲: توزیع فراوانی نسبی موارد مثبت برحسب میزان تولید دام



نمودار شماره ۱۳: توزیع فراوانی نسبی موارد سرمی مثبت در کل دام‌ها برحسب سن دام



نمودار ۱۴ و ۱۵: توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی مثبت و منفی در کل دام‌ها برحسب وجود یا عدم وجود جوندگان

مرطوب این رقم ۴۴/۲۶٪ بود. این نتایج اهمیت رطوبت در اپیدمیولوژی بیماری را خاطرنشان میکند، چرا که جرم عامل بیماری در شرایط رطوبی و مساعد قدرت حیات بیشتری دارد و از اینرو میزان مواجهه دام‌ها با عامل بیماریزا افزایش یافته و در پی آن میزان آلودگی سرمی نیز بالا خواهد بود (۲۷).

اکثریت گاوهایی که از آنها نمونه‌برداری شد (۸۹٪) در محدوده سنی ۲ تا ۷ سال قرار داشتند و از این میان بیشترین فراوانی نسبی موارد مثبت مربوط به گروه‌های سنی ۳ و ۴ ساله‌ها به ترتیب با ۳۰/۷۶٪ و ۳۵/۱۳ درصد بود. این نتایج منطبق بر تئوریهای ارائه شده در منابع می‌باشد که بیشترین سن آلودگی را در همین سن و همزمان با ورود تلیسه‌ها به داخل گله اصلی می‌دانند. چرا که تلیسه‌هایی که بصورت مجزا و جدا از گله دوشا نگهداری می‌شوند، پس از زایمان، به داخل گله اصلی وارد می‌شوند. در این

دامداری‌های می‌شد که موش در آنها مشاهده شده بود و ۵۳٪ به واحدهایی تعلق داشتند که ادعا می‌شد، موش و جونده وجود ندارد. بر این اساس نتایج حاصله نشان می‌دهد که در بین نمونه‌های اخذ شده از دامداری‌های واجد موش ۳۰/۴۶٪ دام‌ها مثبت بودند؛ در حالیکه این رقم در مورد نمونه‌های اخذ شده از دامداری‌های فاقد موش ۱۵/۸۴٪ بود. این اختلاف تقریباً دوبرابر، اهمیت جوندگان را به عنوان میزبان نگهدارنده لپتوسپیروپیداوری میکند (۲۷).

در این بررسی ۷۴٪ نمونه‌ها از واحدهایی تهیه شده بودند که بستر آنها خشک بود و ۲۶٪ نمونه‌های اخذ شده مربوط به دامداری‌هایی بود که بستر آنها رطوبی بود. با تجزیه و تحلیل داده‌های موجود از لحاظ وضعیت بستر، مشخص گردید که در گروه اول یعنی گاوداری‌های با بستر خشک ۱۶/۶۶٪ موارد مثبت بودند؛ در حالیکه در مورد گروه دوم و گاوداری‌های با بستر

با یک سروتیپ (۵۰٪)، ۲۲ نمونه با دو سروتیپ (۴۲/۳٪)، ۳ نمونه با سه سروتیپ (۵/۷۶٪) و یک نمونه با چهار سروتیپ (۱/۹۲٪) واکنش سرمی مثبت داشت (۱). از نمونه‌های سرمی گاوی آزمایش شده در ارومیه (۷۷-۷۶)، ۱۵/۵٪ نسبت به بیش از یک سروتیپ پادتن سرمی داشتند (۴). از بین ۱۳۰ نمونه مثبت بدست آمده از گاوان شیراز، ۷۹/۲٪ نسبت به یک سروتیپ، ۱۴/۴٪ نسبت به دو سروتیپ و ۶/۳٪ نسبت به سه سروتیپ عیار پادتن سرمی داشتند (۱۱). نتایج بررسی سرولوژیکی در شهرکرد (۱۳۸۱) نشان داد که ۱۰/۶۶٪ با بیش از یک سروتیپ آلوده بودند (۱۳). در اهواز نیز ۳۵/۱۶٪ نمونه‌های سرمی نسبت به بیش از یک سروار عیار سرمی مثبت داشتند (۲). همچنین آنالیز نتایج مطالعه اخیر در اهواز نشان داد که از بین موارد مثبت، ۶۴/۸۴٪ نسبت به یک سروتیپ، ۲۶/۸٪ نسبت به دو سروتیپ، ۷/۴۹٪ نسبت به سه سروتیپ، ۰/۵۸٪ نسبت به چهار سروتیپ و ۰/۲۹٪ نسبت به پنج سروتیپ عیار سرمی داشتند (۲).

هنگام برخورد یکباره این دام‌ها با گاوهای مسن‌تر که میزان آلودگی در آنها بالاست، منجر به بروز موارد بیشتری از عفونت در این دام‌ها می‌گردد (۱۸). در مطالعه‌ای که در مشهد و در مورد گاوهای این منطقه انجام گرفت، بیشترین میزان آلودگی را در گاوهای ماده، در محدوده سنی ۲-۴ سالگی گزارش کرده‌اند (۶).

نتایج به‌دست آمده از این بررسی نشان می‌دهد که بین میزان شیر تولیدی گاوها و موارد مثبت سرمی ارتباطی وجود داشت. بدین صورت که در بین گاوهای با تولید ۲۰ تا ۲۹ کیلوگرم، ۴۰/۸۱ درصد موارد مثبت بودند که بطور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از سایر رکوردهای تولید شیر بود. در گاوهای با تولید شیر کمتر از ۲۰ کیلوگرم، ۱۶/۶۶٪، در گاوهای با تولید شیر ۳۰ تا ۳۹ کیلوگرم، ۱۶/۹۶٪ و در گاوهای با تولید شیر ۴۰ تا ۴۹ کیلوگرم، ۱۹/۰۴٪ موارد مثبت بودند. لازم به‌ذکر است که در گاوهای با تولید شیر بیش از ۵۰ کیلوگرم هیچ مورد مثبتی گزارش نگردید. همچنین

جدول ۱: توزیع فراوانی نسبی و مطلق سروتیپ‌های مختلف لپتوسپیرا در دام‌های مورد مطالعه

جمع	هارجو	بالوم	ایکتروهمورازیبه	کنیکولا	گریپوتیفوزا	پومونا	فراوانی مطلق
۷۶	۰	۳	۵	۱۷	۲۵	۲۶	فراوانی مطلق
٪ ۱۰۰	-	٪ ۳/۹	٪ ۶/۶	٪ ۲۲/۳	٪ ۳۲/۹	٪ ۳۴/۲	فراوانی نسبی

نتیجه نهایی اینکه پومونا و گریپوتیفوزا به ترتیب ۳۴/۲٪ و ۳۲/۹٪ شایعترین سروتیپ‌ها بودند. بیشترین میزان آلودگی در فصل زمستان و پاییز مشاهده شد که به ترتیب ۳۲/۷٪ و ۳۴/۳٪ بودند. همچنین در گاوداری‌هایی که موش در آنها مشاهده شده بود و یا دارای بستر مرطوب بودند، آلودگی سرولوژیک به مراتب بیشتر بود. با توجه به آلودگی سرولوژیک به لپتوسپیرا در گاوهای شیری تبریز و بالا بودن عیار سرمی ۱:۱۰۰ مبین حضور اندمیک عفونت لپتوسپیرایی در تبریز است که بدین سان باید اقدامات بهداشتی لازم توصیه گردد.

پاورقی‌ها

- 1- Microscopic agglutination test
- 2- Hardjo
- 3- Pomona
- 4- Icterohaemorrhagiae
- 5- Grippotyphosa
- 6- Canicola
- 7- Ballum
- 8- Bratislava
- 9- Auto Agglutination

در این مطالعه از ۷ رأس گاو خشک نیز نمونه‌برداری شد که از این میان ۶ گاو (۸۵/۷۱٪) مثبت بودند و تنها یک گاو منفی بود. این گاوها اکثراً به دلیل ناباروری و پیری خشک شده بودند و به عنوان دام پرورای نگهداری می‌شدند. این نتایج نقش لپتوسپیرا را در اختلالات تولید مثلی و ناباروری نشان می‌دهد؛ چرا که موضعی شدن جرم در دستگاه تناسلی دام‌ها موجب ناباروری و اختلالات تولید مثلی متعددی می‌گردد (۱۸، ۲۵، ۲۸).

در این بررسی از کل ۲۲۹ نمونه، ۱۷ گاو سابقه سقط جنین داشتند که از این تعداد، ۱۰ مورد (۵۹٪) مثبت گزارش شدند و بقیه منفی بودند. هرچند که با یکبار خونگیری و تنها با استفاده از آزمایش MAT نمیتوان بطور قطع علت سقط را مشخص نمود ولی بارها به نقش لپتوسپیروز بویژه فرم مزمن بیماری در سقط جنین گاوها اشاره شده است (۱۷، ۱۸، ۲۵). در مطالعه‌ای که در برزیل و در مورد ۱۲۰ جنین سقط شده گاو انجام گرفت، ۷۲ مورد (۶۰٪) از جنین‌ها شواهد و علایمی از عفونت لپتوسپیرایی داشتند. از این میان ۴۷٪ مادران و ۱۰ رأس جنین تیترا بالا داشتند (۲۳). نتایج بدست آمده از این بررسی نشان داد که در بین موارد مثبت، ۷۰/۹٪ نسبت به یک سروار، ۲۰٪ نسبت به دو سروار و ۹/۱٪ نسبت به سه سروار تیترا پادتنی داشتند. در مطالعه مشابهی که در تهران (۱۳۸۰) انجام گرفت، ۶۶/۶۶٪ نسبت به یک سروار، ۳۰/۷۶٪ نسبت به دو سروار و ۲/۵۲٪ نسبت به سه سروار واکنش مثبت نشان دادند (۹). در مطالعه‌ای دیگر در شهرستان ارومیه (۷۲-۷۳) از بین ۵۲ نمونه مثبت، ۲۶ نمونه فقط

16- Alonso-Andicoberry, C., Garcia-Pena, F. J., Pereira-Bueno, J., Costas E. and Ortega-Mora, L. M., 2001; Herd-level risk factors associated with *Leptospira* spp. Seroprevalence in dairy and beef cattle in Spain. Preventive Veterinary medicine. 52: 109-117

17- Amstutz, H. E., Anderson, D. P., Armour, S. J., Jeffcott, L. B., Leow, F. M. and Wolf, A. M., 1998, The Merck veterinary manual. Merck & Co., INC. PP: 336, 360, 474-477, 991-996

18- Arthure, G.H., Noakes, D. E., Pearson, H. and Parkinson, T. J., 2001, Veterinary reproduction and obstetrics. 8th edition, Bailliere Tindall, London. PP: 474, 484-487, 518-519, 772, 763, 874

19- Bhat, P. N., Sharma, R. D., Lokeshwar, R. R., Bharti, V. K., Mehra, J. B., Shastri, A. and Chakravarty, A., 1997, Handbook for animal husbandry. Indian council of Agricultural Research. PP: 338-391

20- Ellis, W. A., 2002, Bovine leptospirosis in the tropics: Prevalence, Pathogenesis and Control. www.elsevier.com

21- Guitian, F. J., Garcia-Pena, F. J., Oliviera, J., Sanjuan, M. L. and Yus, E., 2001, Serological study of the frequency of leptospiral infection among dairy cows in farms with suboptimal reproductive efficiency in Galicia, Spain. Veterinary Microbiology, 80: 275-284

22- Helio, L., de Souza, L. C., da Silva, A. V., Luvizotto, M. C. R., Paes, A. C. and Lucheis, S. B., 1999, Incidence of leptospiral abortion in Brazilian dairy cattle. Preventive Veterinary Medicine, 40: 271-275

23- Hickey, P. W. and Demers, D., 2003, Leptospirosis. www.leptospirosis.org

24- Hirsh, D. C. and Zee, Y. C., 1999, Veterinary microbiology. Blackwell publishing. PP: 185-189

25- Howard, J. L. and Smith, R. A., 1999, Current Veterinary Therapy, Food Animal Practice. 4th edition, W. B. Saunders company, PP: 352-357, 637

26- Kaufmann, A. F., Sulzer, K. R., Steigerwalt, A. G., Rogers, F. C. and Brenner, J., 2004, Institute Pasteur, France. www.pasteur.fr/english.html

27- Quinn, P. J., Markey, B. K., Carter, M. E., Donnelly, W. J. and Leonard, F. C., 2002, Veterinary microbiology and microbial disease. Blackwell publishing. PP: 175-184, 453-455, 484

28- Radostitis, O. M. and Blood, D. C., 2000, Veterinary medicine. 9th edition, Bailliere Tindall, PP: 971-985

29- Thursfield, M., 1995, Veterinary Epidemiology. Second edition, Blackwell publishing. PP: 112, 121-1227 Lor sequis liquam acipsusci exerostie coreet dignit, conum incipit alisl ing

منابع مورد استفاده

۱- جعفری، م.، آذروندی، ع.، وندیوسفی، ج.، مرادی بیدهندی، س. و کرامت، ع.، ۱۳۷۸؛ بررسی موارد بالینی مشکوک به لیتوسپیروز و شناسایی سویه‌های درگیر لیتوسپیرا در گاو در شهرستان ارومیه. انتشارات شرکت جهاد تحقیقات و آموزش.

۲- حاجی حاجیکلاسی، م. ر.، قربانپور نجف آبادی، م. و عبدالله پور، غ.، ۱۳۸۴؛ بررسی سرولوژیکی لیتوسپیروز در گاوهای اهواز. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۱، دوره ۶۰، صفحات ۷-۱۴

۳- حسنی طباطبایی، ع.، فیروزی، ر.، ۱۳۸۰؛ بیماریهای باکتریایی دام. انتشارات دانشگاه تهران. صفحات ۴۳۱-۴۴۵

۴- زینالی، ع.، وندیوسفی، ج.، اهورایی، ب.، آذروندی، ع.، بهکام، ع. و جعفری، م.، ۱۳۷۹؛ مطالعه اشکال بالینی، سرولوژیکی و پاتولوژیکی لیتوسپیروز در گاو، گوسفند و بز در کانونهای آلوده شهرستان ارومیه. انتشارات شرکت جهاد تحقیقات و آموزش.

۵- شعاعی، س.، ۱۳۷۳، بررسی سرواپیدمیولوژی آلودگی لیتوسپیروزی گاووان استان آذربایجان شرقی. پایان نامه جهت دریافت دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، شماره پایان نامه ۲۰

۶- طالب خان گروسی، م.، وندیوسفی، ج.، فامیل قدچی، ه.، نوروزیان، ا.، ۱۳۸۲، بررسی سرواپیدمیولوژی آلودگی لیتوسپیروزی در کارکنان و گله‌های گاو شیری دامپروریهای اطراف مشهد. مجله دانشکده دامپزشکی تهران، دوره ۵۸، شماره ۱، صفحات ۸۹-۹۴

۷- عبدالله پور، غ. و راد، م.، ع.، ۱۳۶۸؛ سمینار بیماریهای قابل انتقال بین انسان و دام، تهران، صفحات ۲۳-۲۸

۸- کریم، گ.، فرخنده، ع.، ۱۳۶۳، شیر و بهداشت همگانی. مرکز نشر دانشگاهی تهران، صفحات ۴۸-۴۹

۹- گلی، غ.، ۱۳۸۰، بررسی سرواپیدمیولوژی لیتوسپیروز در دامپروریهای شهرستان کرج. پایان نامه جهت دریافت دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. شماره پایان نامه ۲۸۶۲

۱۰- محرمی، م.، ۱۳۶۹، بررسی سرواپیدمیولوژی لیتوسپیروز در دامپروریهای اطراف تهران. پایان نامه جهت دریافت دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره پایان نامه ۱۹۲۸

۱۱- مشایخی، ط.، ۱۳۷۹؛ بررسی سرواپیدمیولوژیکی لیتوسپیروز در گاوهای اطراف شیراز. پایان نامه جهت دریافت دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شماره پایان نامه ۷۵۹

۱۲- مقامی، غ. و همکاران، ۱۳۴۰؛ گزارشات بخش انگلشناسی مؤسسه رازی حصارک

۱۳- نصرصفهانی، ز.، ۱۳۸۲؛ بررسی تیتراکتیو ضد لیتوسپیروز در گاوهای شهر کرد. مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۲، صفحات ۱۳۳-۱۳۷

۱۴- واحدی نوری، ن.، وندیوسفی، ج. و خرسند، ن.، ۱۳۸۱؛ مطالعه شیوع پادتنهای *Leptospira interrogans* در گله‌های گاو مشکوک استان مازندران. پژوهش و سازندگی، دوره ۱۵، شماره ۱، صفحات ۱۳-۱۵

۱۵- وندیوسفی، ج.، اهورایی، ب.، مرادی بیدهندی، س.، عاملی، م. و اکبرزاده، ج.، ۱۳۷۹؛ بررسی لیتوسپیروز گاو و گوسفند و شناسایی کانونهای آلوده به بیماری در مناطق مشکوک ایران. انتشارات شرکت جهاد تحقیقات و آموزش.

