

## تأثیر فاکتورهای اقلیمی استان‌های ایرانی حاشیه دریای خزر بر بیماری لایم بورلیوز سگ‌ها

محسن حنیفه<sup>۱</sup> عبدالعلی ملماسی<sup>۲\*</sup> محمود داودی<sup>۳</sup> غلامرضا نیکبخت<sup>۴</sup> صدیقه نبیان<sup>۵</sup> علیرضا باهنر<sup>۶</sup> تقی زهرایی صالحی<sup>۴</sup> صادق رهبری<sup>۵</sup>

- (۱) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز، تبریز - ایران.  
 (۲) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.  
 (۳) گروه جغرافیای طبیعی، دانشکده جغرافیای دانشگاه تهران، تهران - ایران.  
 (۴) گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.  
 (۵) گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.  
 (۶) گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.  
 (دریافت مقاله: ۲۴ خرداد ماه ۱۳۹۱، پذیرش نهایی: ۲۰ شهریور ماه ۱۳۹۱)

## چکیده

**زمینه مطالعه:** لایم بورلیوز، بیماری مهم ژئونوز با گسترش جهانی است که توسط اسپروکت‌های کمپلکس *Borrelia burgdorferi sensu lato* ایجاد می‌شود. تاکنون گزارشی در این خصوص در سگ‌ها از ایران منتشر نشده است. **هدف:** تعیین میزان شیوع سرولوژیک پادتن‌های ایجاد شده علیه کمپلکس *B. burgdorferi sensu lato* در سگ‌ها در سه استان خوزی ایران و مطالعه تأثیر فاکتورهای خطر اقلیمی بر آن از اهداف اولیه این مطالعه هستند. **روش کار:** بین تیر تا شهریور ۱۳۸۸، مطالعه‌ای سرواپیدمیولوژیک روی ۲۷۳ قلاده سگ در سه استان شمالی گیلان، مازندران و گلستان، زیستگاه شناخته شده کنه (*Ixodes ricinus*) در ایران، انجام شد. به منظور بررسی رابطه توزیع آلودگی و فاکتورهای اقلیمی با استفاده از سیستم اطلاعات جغرافیایی، موقعیت مکانی سگ‌های سرم مثبت و سرم منفی روی نقشه فاکتورهای اقلیمی استان‌های گیلان، مازندران و گلستان تلفیق گردید. در بررسی‌های آماری، از رگرسیون چندمتغیره و روابط همبستگی استفاده شد. **نتایج:** از ۲۷۳ نمونه سرم سگ اخذ شده در کل منطقه مورد مطالعه، ۲۲ مورد (۸/۱٪) علیه کمپلکس *B. burgdorferi sensu lato* پادتن داشتند. میزان شیوع سرمی *B. burgdorferi sensu lato* در استان‌های گیلان، مازندران و گلستان به ترتیب ۰/۰٪ (۰/۹۱)، ۲/۲٪ (۲/۹۱) و ۲۲٪ (۲۰/۹۱) تعیین گردید. دمای متوسط سالانه رابطه مثبت و معنی داری با درصد شیوع سرمی لایم بورلیوز در سگ‌های سه استان شمالی کشور داشت ( $p < 0.05$ ). **نتیجه‌گیری نهایی:** با توجه به شیوع سرمی لایم بورلیوز در سگ‌های سه استان خوزی ایران، این بیماری به خصوص در استان گلستان بایستی بیشتر مورد توجه قرار گیرد. این، اولین مطالعه در مورد تأثیر فاکتورهای اقلیمی بر لایم بورلیوز سگ‌ها در ایران است.

واژه‌های کلیدی: لایم بورلیوز، سگ، فاکتورهای اقلیمی، استان‌های خوزی، ایران.

سرولوژیک بیماری لایم از روش‌هایی شامل تکنیک الایزا (Enzyme-linked immunosorbent assay) به عنوان تست غربالگر و تکنیک وسترن بلات برای تایید موارد مثبت الایزا استفاده می‌شود (۱۶، ۱۷، ۱۸، ۲۶).

انتشار جغرافیایی بیماری لایم - بورلیوز در جهان هماهنگ با انتشار کنه‌های *Ixodes spp.* می‌باشد. در آمریکای شمالی کنه *scapularis* و در اروپا و اوراسیا به ترتیب کنه‌های *Ixodes ricinus* و *Ixodes persulcatus* ناقلین اسپروکت بورلیا به شمار می‌روند. در ایران، کنه *I. ricinus* در استان‌های ساحلی دریای خزر گزارش گردیده (۱۶، ۳۰، ۳۴) ولی شیوع بیماری لایم بورلیوز سگ و انسان در این مناطق نامعلوم می‌باشد.

از آنجایی که کنه *Ixodes* زندگی خود را بیشتر در محیط بیرون سپری می‌کند لذا تغییرات اقلیمی تأثیر بسزایی در فراوانی و انتشار آن و متعاقباً شیوع بیماری لایم دارد. کنه *I. ricinus* به علت طولانی بودن مرحله غیر انگلی نیاز به رطوبت نسبی حدود ۸۰٪ داشته تا از مرگ ناشی از کمبود آب در امان بماند. بنابراین حضور کنه مذکور محدود به مناطق با میزان بارش

## مقدمه

بیماری لایم بورلیوز یک بیماری مهم ژئونوز با گسترش جهانی می‌باشد که توسط اسپروکت *Borrelia burgdorferi* ایجاد شده و معمولاً در آمریکای شمالی، اروپا و آسیا بوسیله کنه‌های جنس *Ixodes spp.* منتقل می‌شود (۷، ۱۶، ۴۲). این بیماری به صورت بالینی در انسان، سگ، گربه و سایر حیوانات ایجاد شده و بسیاری از پستانداران کوچک، جوندگان و پرندگان مخزن عامل این بیماری به شمار می‌روند (۱۶، ۲۴، ۳۰، ۳۱).

با توجه به تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی اسپروکت *Borrelia burgdorferi*، ۱۱ گونه ژنومی تحت عنوان *B. burgdorferi sensu lato* طبقه بندی شده است که مهمترین آنها عبارتند از: *Borrelia burgdorferi sensu stricto*، *Borrelia afzelii* و *Borrelia garinii* (۵، ۸، ۱۳، ۱۶).

تشخیص بیماری لایم در سگ‌ها بر اساس مشاهده نشانی‌های بالینی، شواهدی دال بر کنه‌گریدگی یا زندگی در مناطق آندمیک و شناسایی پادتن به روش سرولوژیک، پاسخ به درمان و رد کردن دیگر بیماریها صورت می‌پذیرد (۱۲، ۱۴، ۳۵، ۳۶، ۳۸). معمولاً برای تشخیص



فراوان و پوشش مناسب گیاهی می باشد (۱۵).

مطالعات متعددی شیوع سرمی *B. burgdorferi* را در سگ‌ها در قاره‌های آمریکا (۲۰، ۴۲)، اروپا (۱۴، ۲۹، ۳۳) و آسیا (۳) گزارش کرده‌اند. بر اساس منابع گرچه در بین کشورهای خاورمیانه و کشورهای همسایه ایران گزارش‌های معدودی از شیوع بیماری لایم بورلیوز سگ‌ها در ترکیه و اسرائیل وجود دارد (۴، ۶، ۱۹) ولی تاکنون در مورد اپیدمیولوژی آن در ایران تحقیقی صورت نگرفته است. پیرامون وضعیت شیوع بیماری لایم در انسان نیز در ایران، تنها چند گزارش موردی (۱، ۱۱، ۳۷، ۳۹) موجود بوده و تا کنون هیچ مطالعه اپیدمیولوژیکی گزارش نشده است.

با توجه به عدم وجود اطلاعات کافی در مورد وضعیت اپیدمیولوژیکی بیماری لایم بورلیوز سگ‌ها در ایران و بر اساس انتشار جغرافیایی کنه *I. ricinus* در استان‌های شمالی کشور (گیلان، مازندران و گلستان) (۱۶، ۳۰، ۳۴)، مناطق ذکر شده با هدف تعیین میزان شیوع سرولوژیکی پادتن‌های ایجاد شده بر علیه *B. burgdorferi sensu lato* در سگ‌ها و بررسی تاثیر شرایط اقلیمی بر آن برای این مطالعه انتخاب گردیدند.

## مواد و روش کار

**منطقه مورد مطالعه:** این تحقیق در سه استان حاشیه دریای خزر شامل گیلان (شهرهای رشت، رودسر، سیاهکل، فومن و تالش)، مازندران (شهرهای آمل، ساری، چالوس و مناطق لاریجان در آمل و کیاسر در ساری) و گلستان (شهرهای گنبد قابوس، رامیان، کردکوی، مینودشت و بندر ترکمن) انجام شده است (جدول ۱) (تصویر ۱). این سه استان در مجموع ۵۸۹۰۴ کیلومتر مربع مساحت دارند. سواحل جنوبی خزر پر بارش ترین مناطق ایران به شمار می‌روند. به طور کلی در این سه استان اقلیم خیلی مرطوب تا مرطوب وجود دارد که موجب افزایش تنوع زیستی در آن شده است. دمای متوسط گرمای سالانه در جلگه خزر حدود  $17^{\circ}\text{C}$  می‌باشد. در این منطقه تفاوت گرمای تابستان و زمستان از  $16^{\circ}\text{C}$  تا  $30^{\circ}\text{C}$  است. در سواحل خزر معمولاً سرمای شدید در سال از ۲ تا ۳ روز تجاوز نمی‌کند. چگونگی ریزش باران در سواحل دریای خزر متغیر بوده میزان بارندگی از غرب به شرق کاهش می‌یابد به طوری که این میزان در انزلی  $1379\text{ mm}$ ، نوشهر  $982\text{ mm}$  و آشوراده  $379\text{ mm}$  می‌باشد. در حالی که انتشار مکانی بارش از غرب به شرق با کاهش همراه است انتشار زمانی آن وضعیت کم و بیش منظمی دارد به گونه‌ای که در گیلان و مازندران حداکثر بارندگی در پاییز و حداقل آن در بهار اتفاق می‌افتد، ولی در گلستان حداکثر بارش در زمستان رخ می‌دهد (سازمان هواشناسی کشور).

**جمعیت مورد مطالعه:** بر اساس شیوع سرمی گزارش شده از خاور میانه (غرب ترکیه:  $23/2\%$ ؛ شرق ترکیه  $0/0\%$ ؛ اسرائیل:  $10/1\%$ ) (۸، ۱۱، ۲۲) و بر مبنای شیوع احتمالی  $10\%$ ، ضریب اطمینان  $3/56\%$  و سطح اطمینان  $95\%$  تعداد ۲۷۳ نمونه به عنوان جمعیت مورد مطالعه تعیین گردید.

بین ماه‌های تیر تا شهر یور سال ۱۳۸۸ از ۲۷۳ قلاده سگ به ظاهر سالم

و بالای یک سال از استانهای گیلان (۹۱ قلاده)، مازندران (۹۱ قلاده) و گلستان (۹۱ قلاده) به صورت تصادفی نمونه خون جمع آوری گردید. تمام سگ‌ها در محیط باز و به عنوان سگ‌های گله یا نگهبان توسط صاحبان آنها نگهداری می‌شدند. نمونه‌ها از ۵ منطقه با شرایط جغرافیایی و اقلیمی متفاوت در هر استان جمع آوری گردید. اطلاعاتی نظیر سن، سابقه آلودگی، برنامه کنترل کنه و سابقه واکسیناسیون از طریق پرسشنامه جمع آوری گردید. کنه‌های مشاهده شده در طی خونگیری نیز جمع آوری گردیده و برای شناسایی گونه در الکل  $70^{\circ}$  به آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل گردیدند.

**آنالیز مکان-محور (Geospatial analysis):** مشخصات جغرافیایی محل زندگی سگ‌های نمونه برداری شده وارد نرم افزار ArcGIS مدل ۹/۳ (ArcView, ESRI, Redlands, CA) گردید. به منظور بررسی الگوی انتشار آلودگی، موقعیت مکانی سگ‌های سرم مثبت و سرم منفی از نظر آلودگی به *B. burgdorferi sensu lato* با استفاده از سیستم GIS بر روی نقشه بارش و متوسط دمای استان‌های گیلان، مازندران و گلستان تلفیق گردید.

## تست‌های آزمایشگاهی:

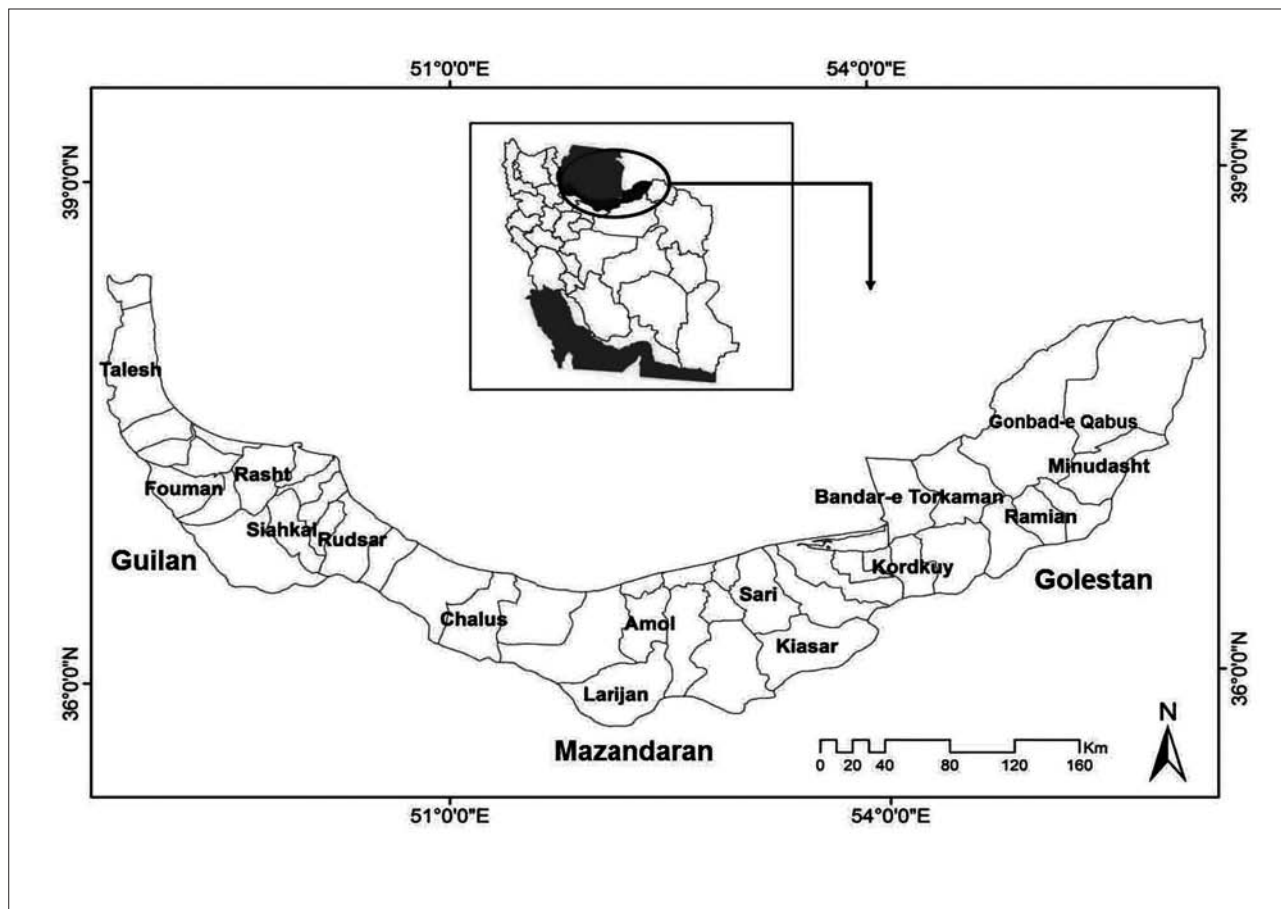
**تکنیک الایزا:** پادتن‌های IgG بر علیه *B. burgdorferi sensu lato* به صورت کیفی توسط کیت تجاری الایزا (Germany NovaTec Immunodiagnostica) شناسایی گردیدند. ویژگی و حساسیت کیت مورد نظر به ترتیب بیش از  $95\%$  و  $93/3\%$  توسط شرکت سازنده تعیین شده است.

نمونه‌های مثبت با روش وسترن بلات مورد تایید قرار می‌گرفتند. **تکنیک وسترن بلات:** برای تایید سرم‌های الایزا مثبت از تکنیک وسترن بلات و کیت تجاری (MegaCor Diagnostik GmbH, Austria) MegaCor (MegaBlot; IgG; استفاده گردید. بعلاوه، ۱۵ نمونه الایزا منفی نیز به عنوان کنترل برای کیت وسترن بلات در نظر گرفته شد. ویژگی و حساسیت کیت نامبرده بر اساس مطالعه انجام شده در اتریش (۲۵) به ترتیب  $95-90\%$  و  $85-90\%$  برآورد شده است.

**آنالیز نمونه‌های مثبت و منفی مطابق با سیستم امتیاز بندی پروتکل شرکت سازنده انجام پذیرفت.**

**آنالیز آماری:** جهت بررسی رابطه بین عوامل اقلیمی با شیوع سرمی بیماری لایم بورلیوز سگ‌ها در سه استان نامبرده از رگرسیون چند متغیره و روابط همبستگی پیرسون استفاده گردید. بدین منظور ابتدا داده‌ها و اطلاعات مورد نیاز جمع آوری و در محیط نرم افزار SPSS تنظیم گردید. جهت بررسی این رابطه از چهار عامل اقلیمی شامل دمای متوسط سالانه، رطوبت نسبی سالانه، بارش متوسط و تعداد روزهای یخبندان سالانه، استفاده گردید. برای به دست آوردن اطلاعات متغیرهای مذکور بدین صورت عمل گردید که بر اساس مکان نمونه گیری نزدیک ترین ایستگاه هواشناسی به آن منطقه انتخاب گردیده و سپس با مراجعه به سازمان





تصویر ۱. موقعیت جغرافیایی منطقه مورد مطالعه شامل سه استان حاشیه دریای خزر و پانزده شهر منتخب.

سالانه با ضریب همبستگی  $0/553$ ، همبستگی مثبت و معنی داری با میزان شیوع سرمی لایم بورلیوز در سگ‌های سه استان شمالی کشور داشت (جدول ۳). با این حال، متغیرهای میانگین بارش، تعداد روزهای یخبندان و رطوبت نسبی سالانه به ترتیب با ضریب همبستگی  $-0/498$ ،  $0/308$  و  $-0/252$  با وجود معنی دار نبودن، همبستگی منفی با شیوع سرمی لایم بورلیوز نشان دادند (جدول ۳).

در جدول ۴ آنچه که دارای اهمیت است مقدار مربع  $R$  تعدیل شده (Adjusted R Square) می باشد. این مقدار نشان می دهد که چه سهمی از واریانس متغیر وابسته به مجموع متغیرهای پیش بینی مربوط می شود. در مدل رگرسیون اجرا شده این مقدار  $0/843$  به دست آمده است. در واقع مدل رگرسیون به کار برده شده قادر است  $84\%$  از کل واریانس تعداد مراجعہ کنندگان را تبیین کند (جدول ۴).

در نهایت جهت تعیین معنی دار بودن مدل رگرسیون، آنوای مدل محاسبه شد (جدول ۵). در این جدول sig. کمتر از  $0/05$  نشان دهنده معنی داری مدل می باشد. در مدل رگرسیون اجرا شده مقدار sig. برابر با  $0/001$  و نشان دهنده معنی دار بودن مدل اجرا شده است.

هواشناسی کشور اطلاعات اقلیمی آن استخراج گردید. همچنین جهت بررسی معنی دار بودن مدل رگرسیون اجرا شده در این تحقیق از تست آنووا استفاده شد. بررسی وجود تفاوت معنی دار از لحاظ آماری بر اساس  $p < 0/05$  انجام گردید.

### نتایج

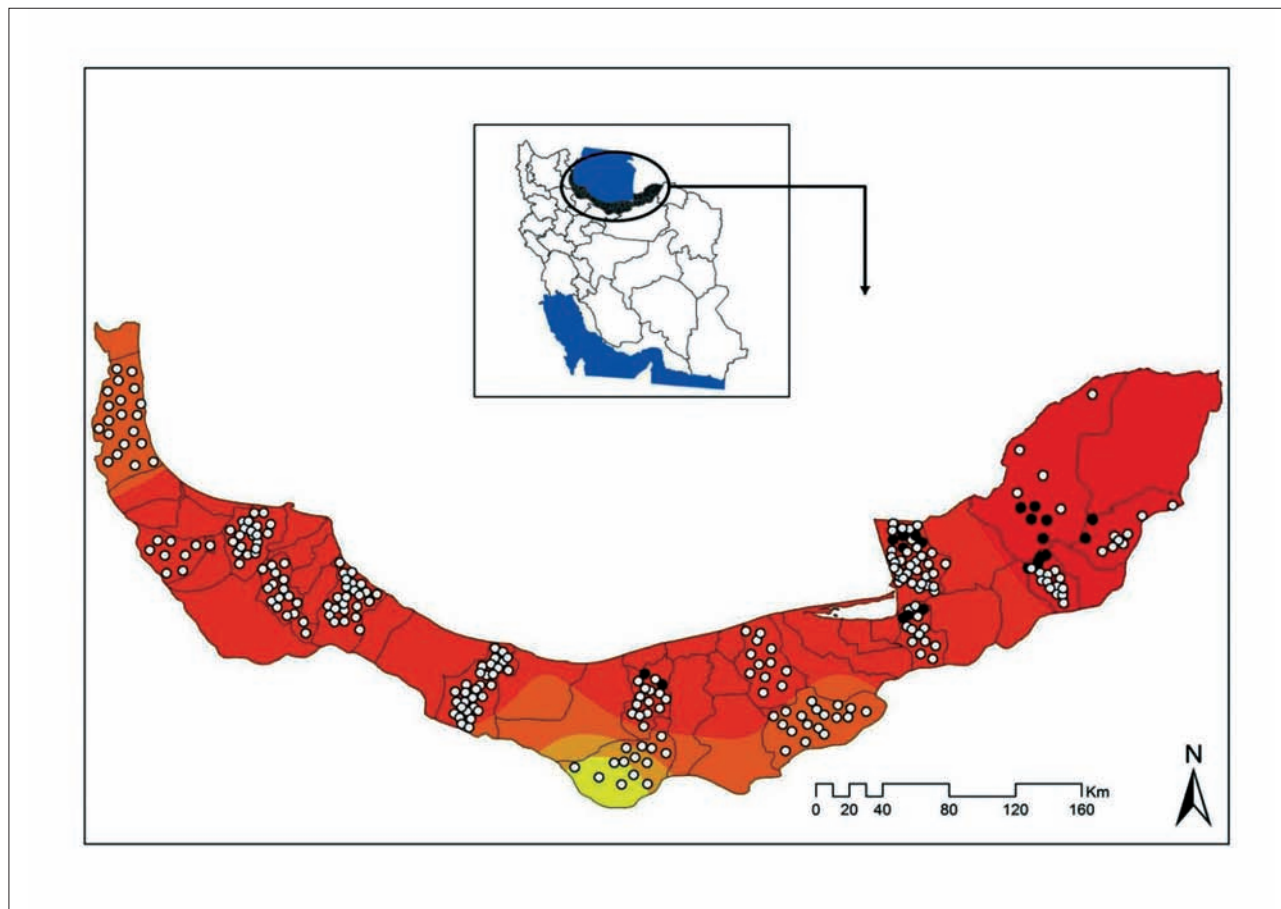
بر اساس غربالگری توسط روش الایزا و تایید بوسیله روش وسترن بلات میزان شیوع سرمی *B. burgdorferi sensu lato* سگ‌ها در سه استان شمالی کشور در حالت کلی  $1/81\%$  ( $22/273$ ) ( $12 - 4/5$ ) (CI) گزارش گردید.

میزان شیوع سرمی در استان گیلان  $0/0\%$  ( $0/91$ )، مازندران  $2/2\%$  ( $2/91$ ) و گلستان  $22\%$  ( $20/91$ ) تعیین گردید.

از میان ۱۵ شهرستان انتخاب شده برای این مطالعه در سه استان، شهرهای گنبد قابوس ( $50/1\%$ )، رامیان ( $23/5$ )،  $4/17\%$  و کردکوی ( $23/1$ )،  $2/13\%$  هر سه در استان گلستان بالاترین میزان شیوع را به خود اختصاص دادند (جدول ۲).

بر اساس نتایج حاصله از ماتریس همبستگی، متغیر میانگین دمای





تصویر ۲. انتشار جغرافیایی سگ‌های سرم مثبت و سرم منفی از نظر آلودگی به *Borrelia burgdorferi sensu lato* بر اساس نقشه میانگین دمای سالانه در سه استان گیلان، مازندران و گلستان.

Average Temperature (Celsius): 10-12 12-14 14-16 16-18 18-19.5

Legend Serological status ○ Negative ● Positive

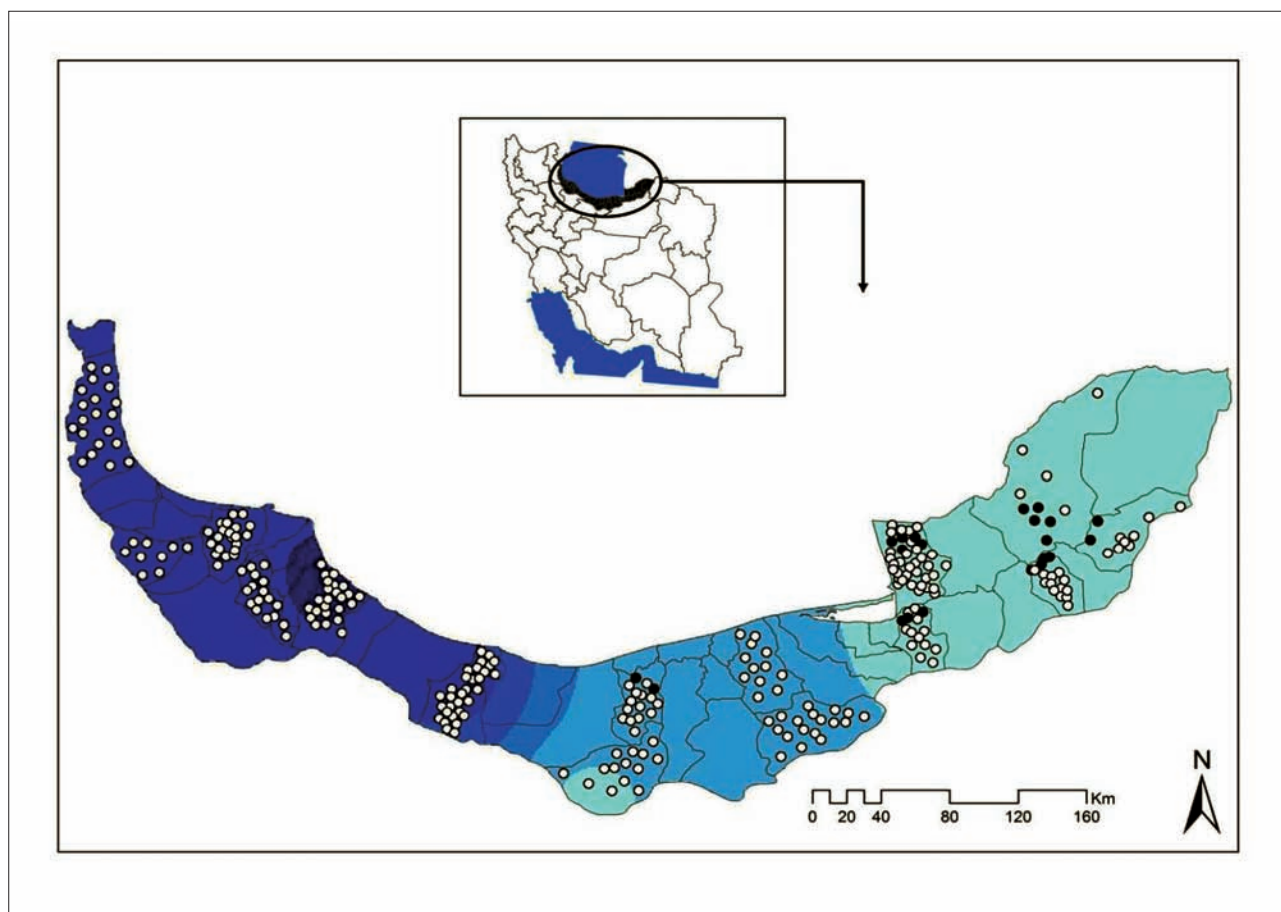
عوامل مورد مطالعه و شیوع سرمی لایم بورلیوز سگ‌ها را نشان می‌دهد. همبستگی معنی‌دار مثبتی بین متوسط دمای سالیانه و مثبت بودن سرم در مطالعه کنونی گزارش گردید. کنه *I. ricinus* برای پوست اندازی به دمای ۸ درجه و برای خروج از تخم به دمای ۱۱-۱۰ درجه نیاز دارد (۱۵) و گستره دمای اپتیموم برای فعالیت مراحل لارو، نوچه و بالغ این کنه به ترتیب  $15-27^{\circ}\text{C}$ ،  $10-22^{\circ}\text{C}$  و  $18-25^{\circ}\text{C}$  می‌باشد (۲۷). در مطالعه کنونی میزان شیوع سرمی لایم بورلیوز سگ‌ها همگام با افزایش گستره دمای سالیانه و نزدیک شدن به دمای اپتیموم برای زیست همه مراحل کنه ناقل ( $19/5-16^{\circ}\text{C}$ )، افزایش یافته است (تصویر ۳). با توجه به بالا بودن میزان شیوع سرمی لایم بورلیوز سگ‌ها در استان گلستان با بالاترین میانگین دمای سالانه ( $18/5^{\circ}\text{C}$ ) و همچنین بالاترین میانگین دما در تابستان ( $27/1^{\circ}\text{C}$ ) (جدول ۱) در بین سه استان، به نظری رسید شیوع سرمی این بیماری تمایل به مناطق گرم‌تر در مطالعه کنونی دارد. تعداد روزهای یخبندان دیگر عاملی بود که رابطه منفی با شیوع سرمی لایم بورلیوز نشان داد (ضریب همبستگی  $-0/308$ ). اثرات مخرب و کشنده سرما و روزهای یخبندان برای *I. ricinus* به صورت تجمعی بوده و اگر چنانچه نوچه‌های

## بحث

لایم بورلیوز سگ‌ها از کشورهای متعددی در بین قاره‌های آمریکا، اروپا و آسیا و همچنین از منطقه خاورمیانه گزارش شده است (۳، ۴، ۶، ۱۴، ۱۸، ۲۰، ۲۳، ۲۹، ۳۵، ۴۳). بر اساس منابع، این اولین مطالعه‌ای است که بر روی شیوع سرمی *B. burgdorferi sensu lato* سگ‌ها در ایران انجام می‌گیرد. در مورد بیماری لایم بورلیوز انسانی در ایران تنها چند گزارش موردی (۱۰، ۱۱، ۳۷، ۳۹) وجود دارد ولی تا کنون هیچ مطالعه اپیدمیولوژیک در جمعیت‌های انسانی انجام نشده است. در مطالعه حاضر میزان کلی شیوع سرمی سگ‌ها ۸/۱٪ بود که با گزارش‌های شیوع سرمی ۹/۷٪ از برزیل (۲۰) و ۱۰٪ از اسرائیل (۴) با استفاده از الایزا یا IFA و تایید تشخیص آن به روش وسترن بلات همخوانی دارد. با این حال، شیوع سرمی در مطالعه کنونی از درصد شیوع گزارش شده از آلمان (الایزا، ۵/۸٪) (۲۱)، سوئد (الایزا، ۳/۹٪) (۱۰) و شرق ترکیه (الایزا، ۰/۰٪) (۱۸) بیشتر ولی از شیوع سرمی کشورهای ژاپن (الایزا، ۲۷/۳٪) (۳)، غرب ترکیه (enzyme-linked protein A/G assay، ۲۳/۲٪) (۶) و هلند (الایزا، ۱۷٪) (۱۴) کمتر می‌باشد. جدول ۳ میزان معنی‌داری و ماتریس همبستگی بین







تصویر ۳. انتشار جغرافیایی سگ‌های سرم مثبت و سرم منفی از نظر آلودگی به *Borrelia burgdorferi sensu lato* بر اساس نقشه میانگین بارش سالانه در سه استان گیلان، مازندران و گلستان.

Precipitation (mm): 400-600 600-800 800-1000 1000-1200 1200-1400 1400-1550

Legend Serological status ○ Negative ● Positive

جدول ۱. اطلاعات اقلیمی استان‌های شمالی کشور (۳۳).

| مساحت استان (km <sup>2</sup> ) | مختصات ناحیه  | میانگین بارش سالانه (mm) | میانگین رطوبت سالانه (%) | میانگین دمای تابستان (°C) | میانگین دمای سالانه (°C) | استان    |
|--------------------------------|---|--------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|----------|
| ۱۴۷۱۱                          | عرض جغرافیایی ۳۵/۳۶ تا ۳۸/۲۶ درجه شمالی<br>طول جغرافیایی ۴۸/۲۵ تا ۵۰/۲۶ درجه شرقی | ۱۴۲۸                     | ۸۲                       | ۲۵                        | ۱۶/۶                     | گیلان    |
| ۲۳۷۵۶                          | عرض جغرافیایی ۳۵/۴۵ تا ۳۶/۵۲ درجه شمالی<br>طول جغرافیایی ۵۰/۲۶ تا ۵۴/۰۸ درجه شرقی | ۹۵۲                      | ۸۲                       | ۲۶/۳                      | ۱۷/۲                     | مازندران |
| ۲۰۴۳۷                          | عرض جغرافیایی ۲۹/۳۶ تا ۳۸/۰۷ درجه شمالی<br>طول جغرافیایی ۵۱/۵۳ تا ۵۶/۱۸ درجه شرقی | ۴۴۶                      | ۷۱                       | ۲۷/۱                      | ۱۸/۵                     | گلستان   |

محل مناسبی برای محافظت کهنه در برابر سرما، خشکی و ایجاد شرایط مناسب رطوبتی برای آن به شمار می‌روند (۲۷). عوامل رطوبتی مورد مطالعه (میانگین رطوبت نسبی و بارش سالیانه) هر دو رابطه‌ی منفی و معکوس با میزان فراوانی بیماری داشتند (تصویر ۴). بر اساس منابع، رطوبت نسبی بالای ۸۰٪ فاکتور مهمی برای فعالیت و زنده ماندن کهنه *I. ricinus* خارج از بدن میزبان به شمار می‌آید (۱۳، ۱۵). این شرایط به راحتی در بسیاری از مناطق مورد مطالعه کنونی فراهم می‌باشد. به نظر می‌رسد یکی از دلایل احتمالی وجود رابطه منفی یا معکوس بین عوامل رطوبتی و این بیماری به خصوصیات منطقه مورد مطالعه باز می‌گردد. با

گرسنه و همچنین لاروها و نوچه‌های خون خورده و جدا شده از میزبان به مدت یک ماه در معرض دمای ۱۰°C- قرار گیرند بیشتر آنها از بین رفته و با افزایش سرما و تماس مستقیم با یخ این مدت کمتر نیز می‌گردد (۱۵، ۲۲). شرایط آب و هوایی سرد و زمستان‌های سخت در ارتفاعات رشته کوه‌های البرز در سه استان شمالی کشور (تصویر ۵) ممکن است در کاهش حضور کهنه *I. ricinus* تاثیر گذاشته و نتیجتاً موجب کاهش آلودگی سرمی علیه *B. burgdorferi sensu lato* در میان سگ‌های این مناطق شده باشد. مناسب‌ترین محل زندگی برای کهنه *I. ricinus* مناطق دارای برگ‌های ریخته شده فراوان و نیز دارای رویش ضخیم بوته‌های ریز می‌باشد زیرا



جدول ۲. توزیع سروپوزیتویتی *B. burgdorferi* sl در میان ۱۵ شهر سه استان شمالی کشور.

| استان    | شهر        | تعداد (فراوانی) سگ‌های تحت مطالعه (%) | تعداد (فراوانی) سگ‌های آلوده (%) | ۹۵٪ سطح اطمینان برای ستون قبلی پایین | ۷۶٪ بالا |
|----------|------------|---------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|----------|
| گلستان   | گنبدکابوس  | ۱۰ (۳/۷)                              | ۵ (۵۰)                           | ۲۳/۷                                 | ۷۶/۳     |
|          | رامیان     | ۱۷ (۶/۲)                              | ۴ (۲۳/۵)                         | ۹/۵                                  | ۴۷/۲     |
|          | کردکوی     | ۱۳ (۴/۸)                              | ۳ (۲۳/۱)                         | ۸/۲                                  | ۵۰/۳     |
|          | مینودشت    | ۱۰ (۳/۷)                              | ۲ (۲۰)                           | ۵/۷                                  | ۵۱       |
|          | بندر ترکمن | ۴۱ (۱۵)                               | ۶ (۱۶/۴)                         | ۶/۷                                  | ۲۸/۴     |
| مازندران | آمل        | ۱۶ (۵/۹)                              | ۲ (۱۲/۵)                         | ۳/۵                                  | ۲۶       |
|          | لاریجان    | ۱۴ (۵/۱)                              | ۰ (۰)                            | ۰                                    | ۲۱/۵     |
|          | ساری       | ۱۲ (۴/۴)                              | ۰ (۰)                            | ۰                                    | ۲۴/۳     |
|          | کیاسر      | ۱۸ (۶/۶)                              | ۰ (۰)                            | ۰                                    | ۱۷/۶     |
|          | چالوس      | ۳۱ (۱۱/۴)                             | ۰ (۰)                            | ۰                                    | ۱۱       |
| گیلان    | رشت        | ۲۱ (۷/۷)                              | ۰ (۰)                            | ۰                                    | ۱۵/۵     |
|          | رودسر      | ۲۴ (۸/۸)                              | ۰ (۰)                            | ۰                                    | ۱۳/۸     |
|          | سیاهکل     | ۱۷ (۶/۲)                              | ۰ (۰)                            | ۰                                    | ۱۸/۴     |
|          | فومن       | ۹ (۳/۳)                               | ۰ (۰)                            | ۰                                    | ۲۹/۹     |
|          | تالش       | ۲۰ (۷/۳)                              | ۰ (۰)                            | ۰                                    | ۱۶/۱     |
| مجموع    | ۱۵         | ۲۷۳ (۱۰۰)                             | ۲۲ (۸/۱)                         | -                                    | -        |

جدول ۳. ماتریس همبستگی متغیرهای اقلیمی با شیوع سرمی بیماری لایم بورلیوز در سگ‌های سه استان شمالی کشور (در مورد متغیرهای اقلیمی از آمار سالیانه آنها استفاده شده است). (\* در سطح ۰/۰۵ معنی دار است (۲۸). (\*\* در سطح ۰/۰۱ معنی دار است (۲۸).

| بورلیوز           | متوسط دما | تعداد روز یخبندان | رطوبت نسبی | بارش  |
|-------------------|-----------|-------------------|------------|-------|
| بورلیوز           | ۱         | ۰/۳۰۸             | ۰/۲۵۲      | ۰/۴۹۸ |
| متوسط دما         | ۱         | ۰/۹۵۷**           | ۰/۲۹۱      | ۰/۱۶۰ |
| تعداد روز یخبندان | ۰/۳۰۸     | ۱                 | ۰/۴۲۷      | ۰/۳۵۶ |
| رطوبت نسبی        | ۰/۲۹۱     | ۰/۴۲۷             | ۱          | ۰/۲۶۰ |
| بارش              | ۰/۱۶۰     | ۰/۳۵۶             | ۰/۲۶۰      | ۱     |

عنوان شایع‌ترین کنه جدا شده از سگ‌ها در مطالعه کنونی (۷۰/۷٪) و تنها گونه کنه جدا شده از سگ‌های مورد بررسی در شهر گنبد قابوس با بالاترین درصد آلودگی به بورلیا (۵۰٪) مشابه مطالعات انجام شده در مکزیک و برزیل (۳۲، ۴۱) است که کنه مذکور را به عنوان تنها یا دومین کنه شایع جدا شده از سگ‌های آلوده به *B. burgdorferi* گزارش کرده‌اند یا آنکه کنه‌های *I. ricinus* به علت اندازه بسیار ریزشان از دید ما پنهان مانده‌اند به مطالعات بیشتری نیاز دارد. بر اساس اطلاعات بدست آمده از پرسشنامه، گمان می‌رود یکی از دلایل احتمالی پایین بودن میزان شیوع سرمی لایم بورلیوز در دو استان مازندران و گیلان با شرایط اقلیمی مساعد همچون دما، رطوبت و بارش، اجرای منظم برنامه کنترل کنه در این مناطق باشد. با توجه به میزان شیوع سرمی ۸/۱٪ برای *sensu lato*

افزایش ارتفاع از میزان دما به سرعت کاسته می‌شود. کاسته شدن دما باعث کاهش گنجایش رطوبتی هوا شده (۳۹) و به همین دلیل در مناطق کوهستانی همیشه رطوبت نسبی بالا ثبت می‌شود. علت پایین بودن میزان شیوع سرولوژیک بیماری در ارتفاعات مناطق مورد مطالعه ما نیز می‌تواند سرما و تعداد روزهای یخبندان بیشتر هم زمان با میزان بالای رطوبت نسبی آنها باشد. از سوی دیگر با توجه به شیوع سرمی لایم بورلیوز در نقشه میانگین بارش سالانه (تصویر ۴) و جدول ۱، این بیماری به طور جالبی در استان گلستان که دارای میزان بارش و رطوبت کمتری است، شایع‌تر بوده، بنابراین احتمال دارد در این منطقه کنه دیگری که در شرایط بارش و رطوبت پایین توانایی زیستن دارد، اسپیروکت *B. burgdorferi* را منتقل نماید. اینکه آیا یافتن کنه *Rhipicephalus sanguineus* به



## References

- Adabi, M., Rahmani Firouzjaei, A., Ghasemi, M. (2004) Report of a case of lyme disease in Mazandaran. Iran. J. Dermatol. 8 (supplement 1): 21-25.
- Alizadeh, A., Kamal, G.A., Mousavi, F., Mousavi-Baygi, M. (2004) Weather and Climate. Ferdowsi University of Mashhad Press. Mashhad, Iran.
- Arashima, Y. (1991) Anti-*Borrelia burgdorferi* antibody in dogs: Lyme disease as zoonosis. Rinsho Byori. 39: 869-874.
- Baneth, G., Breitschwerdt, E.B., Hegarty, B.C., Pappalardo, B., Ryan, J. (1998) A survey of tick-borne bacteria and protozoa in naturally exposed dogs from Israel. Vet. Parasitol. 74: 133-142.
- Baranton, G., Postic, D., Saint Girons, I., Boerlin, P., Piffaretti, J.C., Assous, M., et al. (1992) Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* sp. nov., and group VS461 associated with Lyme borreliosis. Int. J. Syst. Bacteriol. 42: 378-383.
- Bhide, M., Yilmaz, Z., Golcu, E., Torun, S., Mikula, I. (2008) Seroprevalence of anti-*Borrelia burgdorferi* antibodies in dogs and horses in Turkey. Ann. Agric. Environ. Med. 15: 85-90.
- Burgdorfer, W., Barbour, A.G., Hayes, S.F., Benach, J.L., Grunwaldt, E., Davis, J.P. (1982) Lyme disease-a tick-borne spirochetosis? Science. 216: 1317-1319.
- Canica, M.M., Nato, F., du Merle, L., Mazie, J.C., Baranton, G., Postic, D. (1993) Monoclonal antibodies for identification of *Borrelia afzelii* sp. nov. associated with late cutaneous manifestations of Lyme borreliosis. Scand. J. Infect. Dis. 25: 441-448.
- Dantas-Torres, F. (2010) Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. Parasit. Vectors. 3: 26.
- Egenvall, A., Bonnett, B.N., Gunnarsson, A., Hedhammar, A., Shoukri, M., Bornstein, S., et al. (2000) Seroprevalence of granulocytic *Ehrlichia* spp. and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Swedish dogs 1991-94. Scand. J. Infect. Dis. 32: 19-25.
- Emami Namini, A.R., Fatemi Naeini, F., Ghorbani, A. (2005) Case report of Lyme disease in Isfahan. J. Isfahan Med. sch. (I.U.M.S). 23(76-77 Special English

جدول ۴. ضریب‌های تعیین مدل رگرسیون چند متغیره.

| Model | R     | R Square | R Square Adjusted | Error of the Estimate Std. |
|-------|-------|----------|-------------------|----------------------------|
| ۵/۵۹  | ۰/۸۴۳ | ۰/۸۹۵    | ۰/۹۶۴             | ۱                          |

جدول ۵. برازش مدل رگرسیون چند متغیره.

| Model      | of Squares Sum | df | Square Mean | F      | Sig.  |
|------------|----------------|----|-------------|--------|-------|
| Regression | ۲۴۰۹/۵۱۷       | ۴  | ۶۰۲/۲۷۹     | ۱۷/۰۸۲ | ۰/۰۰۱ |
| Residual   | ۲۸۲/۱۱۵        | ۸  | ۳۵/۲۶۴      |        |       |
| Total      | ۲۶۹۱/۶۳۲       | ۱۲ |             |        |       |

*B. burgdorferi* در سگ‌های سه استان شمالی کشور و خصوصاً آلودگی ۲۲٪ در استان گلستان پیشنهاد می‌شود که به بیماری لایم بورلیوز به ویژه در این استان توجه بیشتری شده و نیز برنامه‌ای در جهت کنترل این عفونت و مبارزه با کنه‌های ناقل آن به منظور پیشگیری از بیماری در سگ‌ها و انسان در مناطق نامبرده تدوین گردد. مطالعات بیشتری بویژه از نظر مولکولی جهت ردیابی ژنوم *B. burgdorferi* در کنه‌های سخت جدا شده از سگ‌ها در مناطق آلوده ایران ضروری به نظر می‌رسد.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات و همکاری صمیمانه مسئولین و پرسنل محترم سازمان دامپزشکی استان‌های گیلان، مازندران و گلستان خصوصاً جناب آقای دکتر علی بشری ریاست وقت شبکه دامپزشکی استان گیلان و جناب آقای دکتر رحیم یمرلی ریاست وقت اداره دامپزشکی مینودشت و همچنین کارشناسان محترم آزمایشگاه بخش میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران بویژه جناب آقای مهندس خرمالی و مهندس غفاری و دوست گرامی جناب آقای جمشید بای که در نمونه‌گیری شهر رامیان نهایت محبت را نموده‌اند تقدیر و تشکر ویژه به عمل می‌آید.

Edition): 31-33.

- Fritz, C.L., Kjemtrup, A.M. (2003) Lyme borreliosis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 223: 1261-1270.
- Gern, L., Humair, P.F. (2002) Ecology of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Europe. Lyme Borreliosis: Biol. Epidemiol. Control. 6: 149-174.



14. Goossens, H.A., van den Bogaard, A.E., Nohlmans, M.K. (2001) Dogs as sentinels for human Lyme borreliosis in The Netherlands. *J.Clin. Microbiol.* 39: 844-8.
15. Gray, J.S., Dautel, H., Estrada-Pena, A., Kahl, O., Lindgren, E. (2009) Effects of climate change on ticks and tick-borne diseases in Europe. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* doi:10.1155/2009/593232.
16. Greene, C.E. (2006) *Infectious Diseases of the Dog and Cat* (3<sup>rd</sup> ed.). Saunders Elsevier, St. Louis. London, UK.
17. Guerra, M.A., Walker, E.D., Kitron, U. (2000) Quantitative approach for the serodiagnosis of canine Lyme disease by the immunoblot procedure. *J. Clin. Microbiol.* 38: 2628-2632.
18. Guerra, M.A., Walker, E.D., Kitron, U. (2001) Canine surveillance system for Lyme borreliosis in Wisconsin and northern Illinois: geographic distribution and risk factor analysis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 65:546-552.
19. Icen, H., Sekin, S., Simsek, A., Kochan, A., Celik, O. Y., Altas, M.G. (2011) Prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* infection in dogs from Diyarbakir in Turkey. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* 6: 371-378.
20. Joppert, A.M., Hagiwara, M.K., Yoshinari, N.H. (2001) *Borrelia burgdorferi* antibodies in dogs from Cotia county, Sao Paulo State, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 43: 251-255.
21. Kasbohrer, A., Schonberg, A. (1990) Serologic studies of the occurrence of *Borrelia burgdorferi* in domestic animals in Berlin (West). *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 103: 374-378.
22. Knulle, W., Dautel, H. (1997) Cold hardiness, supercooling ability and causes of low-temperature mortality in the soft tick, *Argas reflexus*, and the hard tick, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodoidea) from Central Europe. *J. Insect. Physiol.* 43: 843-854.
23. Kybicova, K., Schanilec, P., Hulinska, D., Uherkova, L., Kurzova, Z., Spejchalova, S. (2009) Detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in dogs in the Czech Republic. *Vector. Borne. Zoonotic. Dis.* 9: 655-661.
24. Leonhard, S., Jensen, K., Salkeld, D.J., Lane, R.S. (2010) Distribution of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi* in naturally and experimentally infected western gray squirrels (*Sciurus griseus*). *Vector. Borne. Zoonotic. Dis.* 10: 441-446.
25. Leschnik, M. W., Kirtz, G., Khanakah, G., Duscher, G., Leidinger, E., Thalhammer J. G., et al. (2010) Humoral immune response in dogs naturally infected with *Borrelia burgdorferi* sensu lato and in dogs after immunization with a *Borrelia* vaccine. *Clin. Vaccine Immunol.* 17: 825-835.
26. Lindenmayer, J., Weber, M., Bryant, J., Marquez, E., Onderdonk, A. (1990) Comparison of indirect immunofluorescent-antibody assay, enzymelinked immunosorbent assay, and Western immunoblot for the diagnosis of Lyme disease in dogs. *J. Clin. Microbiol.* 28: 92-96.
27. Lindgren, E., Jaenson, T.G.T. (2006) Lyme Borreliosis in Europe: Influences of climate and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. In: *Climate Change and Adaptation Strategies for Human Health.* Menne, B., Ebi, K (eds.). Steinkopff, Darmstadt, Germany. p. 157-188.
28. Mansour Far, K. (2006) *Statistical Methods* (8<sup>th</sup> ed.). University of Tehran Press. Tehran, Iran.
29. Merino, F.J., Serrano, J.L., Saz, J.V., Nebreda, T., Gegundez, M., Beltran, M. (2000) Epidemiological characteristics of dogs with Lyme borreliosis in the province of Soria (Spain). *Eur. J. Epidemiol.* 16: 97-100.
30. Nabian, S., Rahbari, S., Shayan, P., Haddadzadeh, H.R. (2007) Current status of tick fauna in north of Iran. *Iran. J. Parasitol.* 2: 12-17.
31. Nadelman, R.B., Wormser, G.P. (1998) Lyme borreliosis. *Lancet.* 352: 557-565.
32. O'Dwyer, L.H., Soares, C.O., Massard, C.L., Souza, J.C.P.d., Flausino, W., Fonseca, A.H.d. (2004) Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* latu sensu associated with dog ticks in rural areas of the Rio de Janeiro State, Brazil. *Ciencia. Rural.* 34: 201-205.
33. Pejchalová, K., ákovská, A., Fucík, K., Schánilec, P. (2006) Serological Confirmation of *Borrelia burgdorferi*





- Infection in Dogs in the Czech Republic. Vet. Res. Commun. 30: 231-238.
34. Rahbari, S., Nabian, S., Shayan, P. (2007) Primary report on distribution of tick fauna in Iran. Parasitol. Res. 101:175-177.
  35. Salinas-Melendez, J.A., Avalos-Ramirez, R., Riojas-Valdez, V.M., Martinez-Munoz, A. (1999) Serological survey of canine borreliosis. Rev Latinoam Microbiol. 41:1-3.
  36. Skotarczak, B. (2002) Canine borreliosis epidemiology and diagnostics. Ann. Agric. Environ. Med. 9: 137-140.
  37. Soud Bakhsh, A.R., Mohraz, M., Ranjbar, A.R., Yalda, A.R. (2001) Report of two cases Lyme Borreliosis in Iran. Iran. J. Infect. Dis. Trop. Med. 6: 43-48.
  38. Speck, S., Reiner, B., Streich, W.J., Reusch, C., Wittenbrink, M.M. (2007) Canine borreliosis: a laboratory diagnostic trial. Vet. Microbiol. 120:132-141.
  39. Tabatabaie, P., Siadati, A. (2006) A case of lyme disease (Lyme borreliosis). Acta. Med. Iran. 44: 222-224.
  40. Thompson, R.D. (2003) Atmospheric Processes and Systems (1<sup>st</sup> ed). Translated by: Mohammadi, H. University of Tehran Press. Tehran, Iran.
  41. Tinoco- Gracia, L., Quiroz- Romero, H., Quintero-Martinez, M.T., Renteria- Evangelista, T.B., Gonzalez-Medina, Y., Barreras-Serrano, A., et al. (2009) Prevalence of *Rhipicephalus sanguineus* ticks on dogs in a region on the Mexico-USA border. Vet. Rec. 164: 59-61.
  42. Ulrich, R.H., Andrea, T., Steven, K.T., Raimund, E., Gabriele, A., Thomas, R. (2003) Lyme borreliosis. Lancet. Infect. Dis. 3: 489-500.
  43. Wright, J.C., Chambers, M., Mullen, G.R., Swango, L.J., D'Andrea, G.H., Boyce, A.J. (1997) Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* in dogs in Alabama, USA. Prev. Vet. Med. 31: 127-131.



## Effect of climatic factors on canine Lyme borreliosis in Iranian Caspian sea littoral provinces

Hanifeh, M.<sup>1</sup>, Malmasi, A.<sup>2\*</sup>, Davudi, M.<sup>3</sup>, Nikbakht, Gh.R.<sup>4</sup>, Nabian, S.<sup>5</sup>, Bahonar, A.R.<sup>6</sup>, Zahraei Salehi, T.<sup>4</sup>, Rahbari, S.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine University of Tabriz, Tabriz-Iran.

<sup>2</sup>Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine University of Tehran, Tehran-Iran.

<sup>3</sup>Department of Physical Geography, Faculty of Geography University of Tehran, Tehran-Iran.

<sup>4</sup>Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine University of Tehran, Tehran-Iran.

<sup>5</sup>Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine University of Tehran, Tehran-Iran.

<sup>6</sup>Department of Food Hygiene & Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine University of Tehran, Tehran-Iran.

(Received 14 June 2012 , Accepted 11 September 2012)

### Abstract:

**BACKGROUND:** Lyme borreliosis is a worldwide zoonotic disease caused by spirochetes of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex. There are no reports on this subject in dogs from Iran. **OBJECTIVES:** Determining the serologic prevalence level of produced antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex in three Caspian littoral provinces of Iran and studying the effect of climatic risk factors on it are the first aims of this study. **METHODS:** During the period from July to September 2009 a seroepidemiological study was conducted on 273 dogs in three Caspian provinces of Guilan, Mazandaran and Golestan, Iran's known habitats of tick (*Ixodes ricinus*). In order to study the correlation between infection distribution and climatic factors by geographic information system (GIS), geographic position of seronegative and seropositive dogs was overlaid on climatic maps of Guilan, Mazandaran and Golestan provinces. Multivariate regression model and correlation matrix analyses were used for statistical analysis. **RESULTS:** From 273 serum samples in the whole studied area, 22 (8.1%) showed antibodies against *B. burgdorferi* sensu lato complex. The seroprevalence of *B. burgdorferi* sensu lato in provinces of Guilan, Mazandaran and Golestan were 0.0% (0.91), 2.2% (2.91) and 22% (20.91), respectively. Mean annual temperature had positive and significant correlation with *B. burgdorferi* sensu lato complex seroprevalence in sampled dogs of the three north provinces ( $p < 0.05$ ). **CONCLUSIONS:** Regarding the seroprevalence of Lyme borreliosis in dogs of three Caspian provinces of Iran, more attention must be paid to this disease, especially in Golestan province. This is the first study on the role of climatic factors in canine Lyme borreliosis in Iran.

**Key words:** lyme borreliosis, dog, climatic factors, Caspian provinces, Iran.

### Figures Legends and Table Captions

**Figure1.** Geographical location of the three studied Caspian provinces with 15 selected counties.

**Figure2.** Geographical distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato seropositive and seronegative dogs overlaid on mean annual temperature map in three Caspian provinces of Guilan, Mazandaran and Golestan. Average Temperature (Celsius): ■ 10-12 ■ 12-14 ■ 14-16 ■ 16-18 ■ 18-19.5. Legend, Serological status, ○ Negative ● Positive

**Figure3.** Geographical distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato seropositive and seronegative dogs overlaid on mean annual precipitation map in three Caspian provinces of Guilan, Mazandaran and Golestan. Precipitation (mm): ■ 400-600 ■ 600-800 ■ 800-1000 ■ 1000-1200 ■ 1200-1400 ■ 1400-1550. Legend, Serological status, ○ Negative ● Positive

**Table1.** Climatological data of the northern provinces of Iran (33).

**Table2.** Distribution of *B. burgdorferi* sensu lato seropositivity in dogs among 15 counties of three northern provinces of Iran.

**Table3.** Correlation matrix between climatic variables and canine Lyme borreliosis seroprevalence in three northern provinces of Iran (Annual averages were used for climatic variables).

**Table4.** Summarized table of applied multivariate regression model.

**Table5.** Significance determination table of applied multivariate regression model.