Archive of SID

پژوهش‌های علوم دامی
Animal Science Researches

مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۹ شماره ۱/ سال۱۳۹۸/ صفحات ۱۲۵ تا ۱۳۶

بررسی فراوانی آلودگی به۴ سروروار شایع *لپتوسپیرا* در دامداری‌های سنتی شهرستان طارم

علی حسن‌پور[1*]، سید اصغر زاهد[2] و امیر گنج‌خانلو[2]

تاریخ دریافت: ۹۷/۹/۲ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۲۱

[1]دانشیار گروه علوم درمانگاهی دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
[2]دانش‌آموخته دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
[*]مسئول مکاتبه: Email: alihassanpour53@gmail.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: بیماری *لپتوسپیروزیس* یک بیماری زئونوز است که عامل ایجاد کننده آن باکتری گرم منفی و هوازی *لپتوسپیرا انتروگانس* و سرووارهای گوناگون آن می‌باشد. این بیماری می‌تواند در دام ایجاد سقط جنین، ناباروری، کاهش تولید شیر، تورم بیضه‌ها، کاهش تولید اسپرم و متعاقب آن ایجاد هزینه‌های درمانی زیاد را در بر داشته باشد. **هدف**: هدف از این بررسی میزان شیوع سرووارهای مهم *لپتوسپیرا* در جنس نر و ماده دام‌های (گاو، اسب، گوسفند و بز) شهرستان طارم در سنین متفاوت بود. **روش کار**: ۲۰۰ نمونه خون (۸۰ رأس گاو، ۱۰ رأس اسب، ۹۰ رأس گوسفند، ۲۰ رأس بز) از ورید وداج دام‌های مناطق مختلف شهرستان طارم به صورت تصادفی جمع آوری شد و با روش میکروآگلوتیناسیون (MAT) مورد آزمایش قرار گرفتند. **نتایج**: در ٤٨ نمونه (٢٤ درصد) شامل ۲۳ رأس گاو، ۷ رأس بز، ۱۵ رأس گوسفند و ۳ رأس اسب از بین ۲۰۰ نمونه اخذ شده، آلودگی به *لپتوسپیرا اینتروگانس* مشخص شد که در این بین بیشترین درصد مربوط به *لپتوسپیرا گریپوتیفوزا* با ۳۹/۵۹ درصد (۱۹ رأس دام) شامل ۱۰ رأس گاو، ۷ رأس گوسفند و ۲ رأس اسب بود. میزان آلودگی در مناطق مختلف این شهرستان متفاوت بود، ولی اختلاف معنی‌داری از نظر موقعیت مکانی در آنها دیده نشد (P>۰/۰۵). میزان آلودگی در جنس ماده (۲۱/٥٦ درصد) به طور معنی‌داری از جنس نر بیشتر بود (P< ۰/۰۵). ارتباط بین سن و آلودگی سرمی به *لپتوسپیرا* در گاو معنی‌دار (P< ۰/۰۵)، ولی در گوسفند، بز و اسب معنی‌دار نبود. **نتیجه گیری نهایی**: آلودگی سرمی به سویه‌های مختلف *لپتوسپیرا* در بین دام‌های (گاو، اسب، گوسفند و بز) شهرستان طارم وجود دارد که می‌تواند موجب انتقال بیماری به سایر دام‌های سالم و انسان شود. موقعیت مکانی، جنس و سن تأثیر معنی داری در شیوع این آلودگی ندارد. لذا با توجه به عدم واکسیناسیون دام‌ها در منطقه باید واکسیناسیون و توصیه‌های بهداشتی و ضروری در جهت پیشگیری از رخداد بیماری در این منطقه به طور کامل مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: *لپتوسپیرا*، جمعیت دامی، شهرستان طارم

مقدمه

لپتوسپیروز یک بیماری عفونی و زئونوز با انتشار جهانی است و تقریباً در تمام کشورهایی که مورد جستجو قرار گرفته است، آن را یافته‌اند (فرتاشوند ٢٠٠٤). این بیماری برای اولین بار در سال ١٨٨٦ میلادی توسط آدولف وایل در چهار مریض تشخیص داده شد و این بیماری به نام بیماری ویل[1] نامگذاری

[1] Weil´s Disease

www.SID.ir

Archive of SID

گردید. ۲۱ سال بعد یعنی در سال ۱۹۰۷ میلادی استیمسون به وسیله میکروسکوپ زمینه سیاه استفاده کرد و عامل بیماریزا را مشاهده کرد و ۱۰ سال بعد دانشمندی ژاپنی به نام ایندا عامل بیماریزا را با استفاده از محیط‌های غنی جدا و گزارش نمود که موش‌های صحرایی مهمترین حامل آن هستند (وندیوسفی ۱۹۹٤ و طباطبائی و فیروزی ۲۰۰۱).

عامل ایجاد بیماری باکتری گرم منفی *لپتوسپیرا* است که دو گونه *لپتوسپیرا انتروگانس*[1] و *لپتوسپیرا بیفلیکسا*[2] را شامل می‌شود؛ گونه انتروگانس و سروارهای مربوط به آن ایجاد بیماری می‌کنند ولی گونه *بیفلیکسا* و سروارهای آن ساپروفیت بوده و ایجاد بیماری نخواهند کرد. به دلیل اینکه این اجرام بسیار باریک هستند (۰/۰-۱/۲μm) به وسیله میکروسکوپ نوری و رنگ‌های آنیلینی قابل رویت نمی‌باشند (کوئین و همکاران ۲۰۰۲) و برای مشاهده آنها به میکروسکوپ زمینه تاریک و یا فاز کنتراست نیاز است (پورث ۱۹۹۰).

مهمترین میزبان نگهدارنده بیماری جوندگان هستند (جوری و همکاران ۲۰۰۹) و حیوانات وحشی در مقام دوم قرار دارند ولی گاه حیوانات اهلی بخصوص آنهایی که رژیم غذایی گیاهی و به طبع آن ادرار قلیایی دارند نیز به عنوان مخزن مطرح می‌شوند.

روش‌های تشخیصی مختلفی از قبیل کشت میکروارگانیسم از نمونه خون، ادرار و ترشحات واژن تست‌های سرولوژیک مثل MAT والایزا و همچنین PCR برای تشخیص این بیماری وجود دارد (کانستبل و همکاران ۲۰۱۷).

اولین مطالعات گسترده که در ایران در رابطه با بیماری *لپتوسپیروز* انجام شد مربوط به سال ۱۳۳٦ است که توسط مقامی و همکارانش در موسسه سرم سازی رازی بر روی ۳۰۰۰ رأس گاو و گوسفند انجام پذیرفت و طی این مطالعات مشخص شد که ۳۱ درصد از گاوها و ۱۷ درصد از گوسفندان به سروارهای گوناگون باکتری لیپروسپیرا انتروگانس آلوده بودند (حاجی حاجیکلایی و همکاران ۲۰۰۵). جهت پیشگیری از ابتلا به این بیماری بهتر است واکسیناسیون به موقع انجام گیرد و از واکسن‌هایی استفاده شود که از سویه‌های بومی آن منطقه باشد (کوئین و همکاران ۲۰۰۲). همچنین می‌توان با افزایش سطح بهداشت جامعه، مبارزه با جوندگان، خشک کردن باتلاق‌ها، شناسایی دام‌های حامل و انتقال آنها به خارج از گله جلوی گسترش این بیماری را گرفت. این مطالعه به منظور بررسی شیوع ٤ سروار مهم *لپتوسپیرا* با روش MAT در منطقه طارم واقع در استان زنجان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

برای انجام این بررسی در طی تابستان ۱۳۹٤ تعداد ۲۰۰ نمونه خون از ورید وداج دام‌ها (۸۰ رأس گاو، ۱۰ رأس اسب، ۹۰ رأس گوسفند، ۲۰ رأس بز) در شهرستان طارم (شهرهای چورزق و آب‌بر، دهستان‌های درام و دستجرده) به صورت تصادفی از سنین مختلف دام‌ها اخذ شد و پس از جداسازی سرم و انتقال نمونه‌ها به بخش آزمایشگاه میکروبیولوژی بیمارستان دامپزشکی دانشگاه تهران در دمای ۲۰- درجه سلیسیوس فریز شدند.

شهر آب‌بر با ۵۲ رأس دام (۲٦ درصد)، شهر چورزق با ۳۹ رأس دام (۱۹/۵)، دهستان درأم با ٥٤ رأس دام (۲۷ درصد) و دهستان دستجرده با ٥٥ رأس دام (۲۷/۵ درصد) نمونه‌برداری شدند. در مجموع از ٤۷ رأس نر و ۱٥۳ رأس دام ماده نمونه خون اخذ شد. در هنگام نمونه‌گیری اطلاعاتی نظیر نوع دام، سن، جنس و شهر یا دهستان مورد نظر ثبت گردید.

در آزمایشگاه تحقیقی لپتوسپیروز دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران نمونه‌های سرمی توسط تست

[1] *Linterrogans*
[2] *Lbifexa*

www.SID.ir

Archive of SID

میکروآگلوتیناسیون[1] مورد آزمایش قرار گرفتند. در این روش از آنتی‌ژن‌های ٤ سروار مهم باکتری *لپتوسپیرا انتروگانس* در این منطقه، شامل *ایکتروهموراژیه، پومونا، کانیکولا و گریپوتیفوزا* استفاده شد.

با توجه به حجم نمونه‌ها، یک روز قبل از شروع آزمایش MAT رقت ۱:۵۰ از تمامی نمونه‌ها تهیه می‌گردید و در نهایت چهار رقت ۱:۱۰۰، ۱:۲۰۰، ۱:٤۰۰ و ۱:۸۰۰ که برای آزمایش نیاز بود تهیه می‌شد.

با توجه به نتایج مطالعات سرولوژیکی که قبلاً در ایران انجام شده و به منظور صرفه‌جویی در مصرف محیط کشت و نیز تسریع در انجام آزمایش، در بررسی حاضر از ٤ سروار شایع *لپتوسپیرا* شامل *ایکتروهموراژیه، پومونا، کانیکولا و گریپوتیفوزا* استفاده شد. براساس پیشنهاد WHO از کشت‌های خالص و عاری از آلودگی ثانویه ۷ تا ۱۰ روزه *لپتوسپیرا* به مقدار لازم در محیط کشت مایع EMJH برداشته و به ظروف میکروتیوب منتقل می‌شود. ضمناً تراکم باکتری-ها در نمونه‌ای که از محیط مایع برداشته می‌شد به کمک میکروسکوپ زمینه تاریک ارزیابی می‌شد و در صورتی که تراکم آن بیش از حد استاندارد (cell/ml ۱۰^{۸}× ۲) بود، به آن مقداری محیط رقیق کننده استریل افزوده می‌شد.

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 آنتی‌ژن 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 آنتی ژن تخلیه شده و همزمان با آنتی‌زن به طور یکنواخت مخلوط می‌گردید. 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 در آن بجای سرم از محلول رقیق کننده استفاده می‌شد.

د) لام‌ها در بوآت‌های مخصوصی همراه با کاغذ جاذب الرطوبه با احتیاط قرار داده شده، سپس به مدت ۹۰ دقیقه در انکوباتور ۳۰ درجه سانتیگراد نگهداری می‌شدند.

ه) لام‌ها پس از طی زمان فوق از انکوباتور خارج شده و با کمک میکروسکوپ زمینه تاریک با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر مورد بررسی قرار می‌گرفت.

میزان آگلوتیناسیون در هر نمونه به شرح زیر از +۱ تا +٤ درجه‌بندی شدند:

$^{+}$۱: ۲۵ درصد اجرام *لپتوسپیرایی* آگلوتینه شدند.

$^{+}$۲: ۵۰درصد اجرام *لپتوسپیرایی* آگلوتینه شدند.

$^{+}$۳: ۷۵درصد اجرام *لپتوسپیرایی* آگلوتینه شدند.

$^{+}$٤: اکثر قریب به اتفاق اجرام *لپتوسپیرایی* آگلوتینه شدند.

منفی: هیچ آگلوتیناسیونی مشاهده نشد.

بر اساس استاندارد WHO نمونه‌هایی که آگلوتیناسیون آنها در حد $^{+}$۱ بودند، منفی تلقی شدند. تنها نمونه‌های $^{+}$٤ مثبت منظور می‌شدند و بقیه موارد به حساب موارد مشکوک گذاشته می‌شدند.

آزمایش MAT برای رقت‌های ۱:۱۰۰ ، ۱:۲۰۰، ۱:٤۰۰ و ۱:۸۰۰ در تمام نمونه‌هایی که در رقت ۱:۵۰ مثبت بودند، عیناً انجام گرفت. بالاترین رقتی که در آن میزان آگلوتیناسیون $^{+}$٤ مشاهده می‌شد، به عنوان تیتر نهایی پادتن در نمونه سرمی تعیین می‌گردید.

اطلاعات به دست آمده توسط برنامه SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. میزان آلودگی به صورت توصیفی بیان شده و جهت مقایسه آماری بین گروه‌ها از روش T-test و ANAVA استفاده شد.

[1] Microscopic Aagglutination Test

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج و بحث

تعداد ٤٨ نمونه (٢٤ درصد) از ٢٠٠ نمونه مجهول مورد آزمایش، دارای آلودگی به سروارهای مختلف باکتری *لپتوسپیرا* بودند و تعداد ١٥٢ مورد (٧٦ درصد) از نمونه‌ها از لحاظ تست سرولوژیکی منفی بودند.

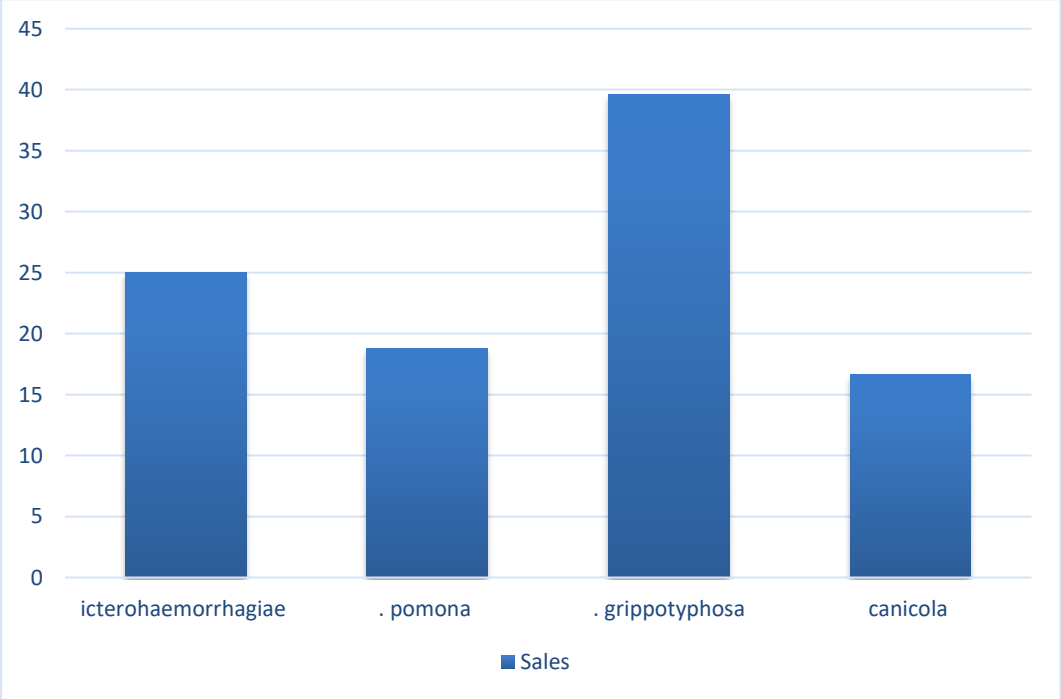
تمامی نمونه‌ها تنها به یک نوع از سروار واکنش نشان دادند و هیچ کدام نسبت به سایر سروارهای *لپتوسپیرا انتروگانس* واکنش نشان ندادند.

غالبیت با سروار *گریپوتیفوزا* با ٣٩/٥٩ درصد(١٩ رأس دام) بود و مابقی سروارها به ترتیب فراوانی شامل *ایکتروهموراژیه* با ٢٥ درصد (١٢ رأس دام)، *پومونا* با ١٨/٧٥ درصد (٩ رأس دام) و در نهایت *کانیکولا* با ١٦/٦٦ درصد (٨ رأس دام) بودند (شکل١).

در بین مناطقی که نمونه خون از آن محل‌ها اخذ شده بود میزان آلودگی بر حسب جمعیت مورد مطالعه هر منطقه به ترتیب به اینگونه بود که چورزق ٢٥/٦٤ درصد، درام ٢٤/٠٧ درصد، دستجرده ٢٣/٦٣ درصد و آب‌بر ٢٣/٠٧ درصد را داشتند که اختلاف معنی‌داری بین مناطق و درصد آلودگی یافت نشد.

بر اساس جدول شماره ١ در بین ٤٨ رأس دام مثبت، دام‌های ماده با ٣٣ رأس (٦٨/٧٥ درصد) بیشترین میزان آلودگی نشان دادند و اختلاف بین دو جنس نر و ماده معنی‌دار بود (P< ٠/٠٥).

در مورد سن دام اختلاف بین میزان آلودگی در بین سنین مختلف به تفکیک گونه در گاو گوسفند Pvalue=٠/٠٣٢<٠/٠٥، Pvalue=٠/٢٦٩<٠/٠٥، بز Pvalue=٠/٦٦٦<٠/٠٥ و اسب Pvalue= ٠/٣٠٠<٠/٠٥ بوده که فقط در مورد گاو ارتباطی بین سن و آلودگی مشاهده شد.



شکل ١- درصد آلودگی به سروارهای مورد آزمایش

Figure 1- Percentage of experimental serovars

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- میزان جمعیت دامی و تعداد دام‌های آلوده مورد بررسی بر حسب نوع دام و محل زندگی

Table 1- The amount of animal population and the number of infected animal's according to species and location

Location		Chavarzag		Daram		Abbar		Dastjerde		Total	
Animal species	**Sex**	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Cattle	Sample	3	12	8	14	5	20	5	13	21	59
	Infected	2	2	1	4	3	5	2	5	7	16
Goat	Sample	2	3	1	5	1	3	2	3	6	14
	Infected	1	1	1	2	0	1	1	0	3	4
Sheep	Sample	3	13	2	21	4	18	6	23	15	75
	Infected	1	2	0	5	0	2	2	3	3	12
Horse	Sample	2	1	1	2	0	1	2	1	5	5
	Infected	1	0	0	0	0	1	1	0	2	1
Total	Sample	10	29	12	42	10	42	15	40	47	153
	Infected	5	5	2	11	3	9	5	8	15	33

جدول ۲ - میزان جمعیت دام‌های مورد مطالعه و آلوده به *لپتوسپیرا* برحسب نوع، جنس و سن دام‌های

Table 2- The rate of studied animal based on species, age and sex

Age		<1year old		1-2 years old		2-3 years old		3-4 years old		Total	
Animal species	**Sex**	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Cattle	Sample	7	11	6	9	3	14	5	25	21	59
	Infected	1	1	1	2	2	5	3	8	7	16
Goat	Sample	1	4	2	1	2	2	1	6	6	14
	Infected	0	1	1	0	1	1	1	2	3	4
Sheep	Sample	4	10	3	17	4	26	4	22	15	75
	Infected	1	2	1	2	0	2	1	6	3	12
Horse	Sample	0	1	1	0	1	2	3	2	5	5
	Infected	0	0	0	0	0	1	1	2	2	1

جدول شماره ۳ - میزان فراوانی سرووار و تیترهای سرمی سروارهای *لپتوسپیرا* در دام‌های آلوده مورد بررسی

Table 3-Frequent of Serovar and serum titers of *Leptospira* serovars in infected animal's

Serum dilution				
Serovar	1:100	1:200	1:400	1:800	Number
Grippothyphosa	11	5	2	1	19
Icterohaemorrhagiae	6	3	2	1	12
Pomona	5	4	0	0	9
Canicola	3	3	1	1	8
Total	25	15	5	3	48

بر اساس جدول شماره ۳ فراوانی تیترهای سرمی و درصد آلودگی تیترهای سروارهای *لپتوسپیروز* نشان دهنده حداکثر تیتر سرمی با رقت ۱:۱۰۰ بوده که در آن با ۲۵ مورد (۵۲ درصد) فراوانی وجود داشت. بعد از آن رقت‌های ۱:۲۰۰ با ۱۵ رأس و ۳۱/۲۵ درصد فراوانی، ۱:٤۰۰ با ۱۰/٤۲ درصد فراوانی و ۱:۸۰۰ با ٤/۱۷

www.SID.ir

Archive of SID

درصد فراوانی به ترتیب بیشترین تا کمترین میزان درصد فراوانی را شامل می‌شدند.

در شرایط ایران بیماری *لپتوسپیروزیس* بیشتر در نقاطی که بارندگی فراوان و آب و هوای معتدل دارند، دیده می‌شود؛ بنابراین می‌توان گفت که این بیماری یک بیماری فصلی است. همانطور که در کشت و صنعت مغان به دنبال بارش‌های فراوان در سال ۱۳۷۹ اپیدمی این بیماری به وقوع پیوست (ذاکری و همکاران ۲۰۱۰). از طرفی چون شهرستان طارم به استان گیلان نزدیک بوده و دارای آب و هوای معتدل و مرطوب است و از طرفی این بررسی‌ها در فصل بهار انجام شده که در این مدت بارندگی‌های کثیری هم در منطقه رخ داده است پس می‌توان به این نتیجه رسید که با افزایش میزان بارندگی‌ها و با معتدل شدن هوا میزان درگیری به بیماری *لپتوسپیروزیس* می‌تواند افزایش یابد، همانگونه که در بررسی بر روی گاومیش‌های ارومیه بیان داشته‌اند که نگهداری این دام در مناطق مرطوب و باتلاقی احتمال انتقال بیماری به دام‌های اهلی را افزایش می‌دهد (عبداله‌پور و همکاران ۲۰۱۶).

همانگونه که از نتایج مشخص شد بیشترین درگیری در بین دام‌ها، مربوط به بزها بود به طوری که از ٤٨ نمونه مثبت ۷ رأس (۵۳ درصد) درگیر بیماری بودند و پس از آن بیشترین درگیری مربوط به اسب‌ها می‌باشد که با ۳ مورد (۳۰ درصد) در رتبه دوم قرار دارند در حالی که طبق مطالعاتی که بر روی تکسمی‌های ارومیه انجام شده است نشان داده شد که میزان آلودگی اسب‌ها ارومیه در مقایسه با سایر اسب‌ها جهان و همچنین سایر دام‌های منطقه ارومیه کمترین میزان آلودگی را داشتند که با نتایج این مطالعه همسو نبوده است (رامین و همکاران ۲۰۱٤). گاوهای منطقه با ۲۳ مورد مثبت (۲۸/۷۵ درصد) در رتبه سوم بودند و بعد از گاوها کمترین میزان درگیری به این بیماری در بین گوسفندان منطقه بود که از ٤٨ رأس دام مثبت ۱۵ رأس (١٦/٦٧ درصد) مربوط به گوسفندان بوده است. تحقیقاتی که بر روی گاوها و گوسفندان شهرستان ارومیه انجام شد تأیید کننده این امر بود که رخداد بیماری *لپتوزپیروزیس* در گاوها بیش از گوسفندان است (رامین و همکاران ۲۰۱۳) و این امر شاید به دلیل حساستر بودن گاوها نسبت به گوسفندان باشد و یا امکان دارد به دلیل عدم واکسیناسیون صحیح در گاوها نسبت به گوسفندان، این اتفاق رخ داده باشد.

از بین ۱۰ اسب مورد بررسی ۲ رأس اسب نر (۲۰ درصد) به سروار *گریپیتوفوزا* و ۱ رأس اسب ماده (۱۰ درصد) به *ایکتروهموراژیه* پاسخ مثبت داده بودند، این در حالی است که طی تحقیقی در آذربایجان شرقی سروار *پومونا* را ۳۸/۹٦ درصد از موارد سرمی مثبت در بین اسب‌ها، الاغ‌ها و قاطرهای منطقه گزارش شده است و در منطقه تبریز سروار *پومونا* را ٤٦/۱۵ درصد از موارد سرمی مثبت در بین اسب‌ها گزارش نموده‌اند (حسن‌پور و همکاران ۲۰۰۹). همچنین طبق تحقیقات انجام شده برروی تکسمی‌های منطقه ارومیه در بین دام‌های مثبت، ۳۸/۹ درصد *هارجو*، ۲۷/۸درصد *گریپوتیفوزا*، ۲۲/۲ درصد *ایکتروهموراژیه* و ۱۱/۱ درصد کانیکولا گزارش شده است (رامین و همکاران ۲۰۱٤). این یافته‌ها می‌تواند بیانگر این امر باشد که اسب‌ها می‌توانند به هر کدام از سرووارهای *لپتوسپیرا اینتروگانس* بسته به شرایط محیطی مبتلا شوند. در این بررسی اختلاف معنی‌داری بین جنس نر و ماده در بین اسب‌ها مشاهده شد که همسو با تحقیقات انجام گرفته در تبریز بود که بر طبق آن مطالعه آلودگی در اسب‌های نر ٤٢/٦٨ درصد و در مادیان‌ها ۳۰/۷۷ درصد بود که اختلاف معنی‌داری بین نریان‌ها و مادیان‌ها در آلودگی سرولوژیک مشاهده شد (حسن‌پور و همکاران ۲۰۰۹) و با گزارشات تحقیقی در رابطه با اسب‌های اوهایو مطابقت دارد (پارک و همکاران ۱۹۹۲).

نتایج به دست آمده بیانگر این موضوع بود که دامهای ماده با ۱۱/۵ درصد (۳۳ رأس دام) نسبت به نرها با ۷/۵ درصد (۱۵رأس) بیشتر در معرض آلوده شدن به

www.SID.ir

Archive of SID

بیماری قرار دارند که می‌تواند به دلیل شرایط فیزیولوژیکی و ترشحات هورمونی متفاوت به وجود آمده باشد.

تحقیقاتی که در سال ۱۳۸۸ تا ۱۳۹۰ در ارومیه بر روی گاوها و گوسفندان انجام شده بود و همچنین تحقیقاتی بر روی گاومیش‌های منطقه ارومیه انجام شده بود حاکی از این بود که اختلاف معنی داری بین دو جنس نر و ماده وجود ندارد که با نتایج حاصله از این تحقیق همسو نبوده (رامین و همکاران ۲۰۱۳؛ عبداله‌پور و همکاران ۲۰۱٦)، در حالی که طبق تحقیقاتی که در سال ۱۳٥٦ در مورد گاوداری‌های اطراف تهران انجام گردید، مشخص شد که ۲٤/٦ درصد از درگیری‌ها مربوط به گاوهای ماده است (مقامی ۱۹۸۱) که همسو با بررسی‌های ما بوده است. این در حالی می‌باشد که طبق تحقیقات انجام شده در سال ۱۳۹۰ بر روی بزهای ارومیه، مشخص گردید که درگیری در بزهای ماده بیش از بزهای نر می‌باشد و دارای اختلاف معنی داری می‌باشد. (عبداله‌پور و همکاران ۲۰۱۳).

در این مطالعه مشخص شد که *لپتوسپیرا گریپوتوفوزا* با ۳۹/٥۹ درصد بیشتر و *کانیکولا* با ۱٦/٦٦ درصد کمترین میزان آلوده کنندگی داشته است که بررسی سرولوژیکی بر روی ۳۸٥ نمونه سرم گوسفندان استان آذربایجان غربی می‌تواند این موضوع را تأیید کند به طوری که در آنجا سروووار *گریپوتیفوزا* با ٥۲ درصد بیشترین و سروووار *کانیکولا* ۳/۲٥ کمترین مقادیر را داشته‌اند. همچنین در استان گیلان مطالعه‌ای در این ارتباط انجام شد که بیانگر این موضوع بود که سروووار *گریپوتیفوزا* بیشترین مورد و سروووار *کانیکولا* کمترین میزان را دارند (خشت مسجدی ۱۹۹۸)؛ این در حالی بود که طبق تحقیقات انجام شده برروی گاومیش‌های ارومیه، سروتیپ *پومونا* با ۱٦/۲ درصد بیشترین میزان درگیری و *ایکتروهموراژیه* با ۱/٥۲ درصد کمترین درگیری را داشته‌اند (عبداله‌پور و همکاران ۲۰۱٦) که این امر می تواند به علت تفاوت‌های گونه‌ای بین گاومیش و سایر دام‌ها باشد که باید این موضوع بیشتر مورد تحقیق و بررسی قرار گیرد.

در آزمایشات سرولوژیک *لپتوسپیروز* مانند MAT، نتایج معمولاً عفونت را در مورد بیش از یک سروووار مشخص می‌کند (پارک و همکاران ۱۹۹۲). این مسأله ممکن است در نتیجه وجود عفونت همزمان با چند سروووار اتفاق افتد، اما وجود واکنش متقاطع[1] بین سروووارها در آزمایش MAT می‌تواند باعث انحراف در گزارش آن شود ولی در این تحقیق هر کدام از نمونه‌های مثبت فقط به یکی از آنتی‌ژن‌ها پاسخ مثبت دادند چه بسا اگر در این بررسی از آنتی‌ژن‌های دیگر نظیر آنتی‌ژن مربوط به سروووار *هارجو*، *بالوم* و *اتومنالیس* هم استفاده می‌شد شاید تعداد دام‌های آلوده یا تعداد دام‌های که علاوه بر یک سروووار به سروووار دیگر هم جواب مثبت می‌دادند بیشتر می‌شد که این مسئله جای بررسی‌های بیشتری را دارد؛ چنانچه در مطالعه بر روی تک‌سمی‌های ارومیه ٥/۹ درصد از تک‌سمی‌ها همزمان به دو سروووار متفاوت پاسخ مثبت داده‌اند(رامین و همکاران ۲۰۱٤)، همچنین طبق تحقیقات انجام شده در تبریز ۸ مورد از نمونه‌های مورد آزمایش (۲۰/٥۱ درصد موارد سرمی مثبت) برای بیش از یک سروتیپ، مثبت بودند (حسن‌پور و همکاران ۲۰۰۹).

همچنین طبق تحقیقاتی که بر روی گاوها و گوسفندان منطقه ارومیه انجام شده است، تحقیقات بیانگر این موضوع است که احتمال رخداد درگیری با بیش از یک سروووار در گاوها بیشتر از گوسفندان است ولی اغلب دام‌ها به یک سروووار مبتلا بودند (رامین و همکاران ۲۰۱۳).

فراوانی تیترهای سرمی و درصد آلودگی تیترهای سروووارهای *لپتوسپیروز* نشان دهنده حداکثر تیتر سرمی با رقت ۱:۱۰۰ بود که در آن با ۲٥ مورد ٥۲ درصد فراوانی وجود داشت این درحالی بود که طبق تحقیقات انجام شده بر روی گاومیش‌های ارومیه

[1] Gross reactivity

www.SID.ir

Archive of SID

شایعترین عیار سرمی ۱:۱۰۰ با ۲۰ درصد (۲٦ نمونه) و بالاترین عیار سرمی ۱:۲۰۰ با ۱۰ درصد (۱۳ نمونه) بودند.

دام‌های این منطقه چون بیشتر از قسمت شمال کشور خریداری می‌شوند پس احتمال وجود بیماری در آنها و انتقال آن به این منطقه بالا است. از آنجایی که این شهرستان نزدیک به استان گیلان است پس تقریباً سروارهای موجود در این دو منطقه یکسان خواهند بود به طوری که مطالعات انجام شده در طی سال‌های ۲۰۰۵- ۲۰۰٤ این امر را بیان می‌کند که در گاوهای استان گیلان بیشترین سروارهای تشخیصی *پومونا*، *گریپوتیفوزا* و *کانیکولا* بوده که هر ۳ مورد در نمونه‌های مورد آزمایش این بررسی مثبت بوده‌اند. علت اصلی برای این موضوع می‌تواند وجود موش‌ها و سگ‌ها باشد که این سروارها را بین دو منطقه طارم و گیلان پخش می‌کنند (شفیقی ۲۰۰٦).

در این منطقه بیشتر چرا دام‌ها به صورت آزاد و مرتعی بود و همچنین آبیاری دام‌ها بیشتر از طریق برکه‌ها و آبگیرها موجود انجام می‌شد از سویی دوام *لپتوسپیراها* در آب‌های راکد بیش از آب‌های جاری است و اجرام تا ۱۵ روز از خود مقاومت نشان می‌دهند (کوئین و همکاران ۲۰۰۲). این امر می‌تواند موجب گسترش عفونت در بین دام‌ها شود، چرا که جوندگان و سایر دام‌های آلوده که در منطقه چراگاه یا برکه‌ها و آبگیرها وجود دارند می‌توانند توسط ادرار خود محیط، غذا و آب را آلوده کنند و در نتیجه آن موجب درگیری و بیماری سایر دام‌ها نیز شوند (جوری و همکاران ۲۰۰۹؛ لووت ۲۰۰٤). در این بررسی مشخص شد که بیماری در دام‌های ۳ الی ٤ سال شیوع بیشتری دارد به طوری که ۲۳ رأس (۱۱/۵ درصد) از کل دام‌ها در این رنج سنی قرار داشتند. طبق مطالعات بر روی گاومیش‌های ارومیه بیشترین میزان درگیری (۱٦ درصد) در سنین ۳ الی ٤ سال بود که همسو با نتایج ما بود (عبداله‌پور و همکاران ۲۰۱٦). در مطالعه انجام گرفته بر روی گاوهای شیری منطقه مهاباد میزان شیوع سرمی عفونت *لپتوسپیرایی* در بین گاوها ۱۷ درصد بود. ارتباط معنی‌داری بین سن با وقوع عفونت *لپتوسپیرایی* مشاهده شد و بیشترین آلودگی در سن ۳ الی ٦ سالگی بود (قربانی و حسن‌پور ۲۰۱٦). همچنین طبق تحقیقاتی که بر روی گوسفندان و گاوهای منطقه ارومیه انجام شده است نتایج نشان می‌دهند که با افزایش سن میزان درگیری در بین گاوها افزایش داشته است (رامین و همکاران ۲۰۱۳). با گذشت زمان و مواجه شدن بیشتر دام با محیط و به طبع آن با باکتری *لپتوسپیرا* احتمال درگیری هم بالا می‌رود. احتمال دیگری که وجود دارد کاهش توانایی پاسخ دستگاه سیستم ایمنی علیه عوامل بیگانه است و باعث می‌شود تا دام‌های با سن بالاتر دچار این بیماری شوند ولی طبق تحقیقات انجام شده بیشترین میزان بروز این بیماری در سنین ۲ الی ۳ سال است یعنی دام‌های جوان مستعد این بیماری هستند (برنر و همکاران ۱۹۹۹ و لووت ۲۰۰۱) که همسو با مطالعات انجام شده بر روی بزهای ارومیه می‌باشد (عبداله‌پور و همکاران ۲۰۱۳). هر چند در بررسی‌های انجام شده رنج سنی ۲ الی ۳ سال با ۱۵ مورد (۷/۵ درصد) در رتبه دوم قرار دارد و می‌تواند کمی همسو با بیانات طباطبائی باشد (طباطبائی و فیروزی ۲۰۰۱).

نتیجه گیری کلی

آلودگی سرمی *لپتوسپیرا* در دام‌های شهرستان طارم وجود دارد و ارتباط معنی‌داری بین جنس دام با آلودگی برقرار است و افزایش سن فقط در گاو با رخداد آلودگی ارتباط معنی‌داری دارد. با توجه به وجود آلودگی در منطقه توصیه‌های لازم از قبیل رعایت موازین بهداشتی و قرنطینه، واکسیناسیون و مبارزه با جوندگان ناقل باید انجام پذیرد.

www.SID.ir

Archive of SID

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله برخود لازم می‌داند از جناب آقای دکتر عبداله‌پور، آزمایشگاه تحقیقات لپتوسپیروز دانشگاه تهران تشکر و قدردانی نمایند.

منابع مورد استفاده

Abdollahpour Gh, Shafighi T and Sattari TS, 2009. Serodiagnosis of leptospirosis in Cattle in north of Iran, Gilan. International Journal of Veterinary Research 3(1): 7-12.

Abdollahpour Gh, Ramin A and Khalili Y, 2013. Serological evaluation of leptospira serotypes using microscopic agglutination test in Urmia goats. Journal of Animal Science Researchers 24 (1): 71-81 (In Persian).

Abdollahpour Gh, Ramin A and Sanajou D, 2016. Seroinvestigation of buffalo's leptospirosis in Urmia district. Journal of Animal Science Researchers 26 (2): 59-68 (In Persian).

Adler B and Mocrezuma A, 2010. *Leptospira* and leptospirosis. Veterinary Microbiology, 140: 287-296.

Brenner J, Kaufmann AF, Sulzerk R, Steigerwalt, AG, Rogers FC and Weyant RS, 1999. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family *Leptospira*ceae with a proposal for *Leptospira* alexanderi sp. nov. and four new *Leptospira* genomospecies. International Journal of Systemic Bacteriology 49: 839–858

Fartashvand M, 2004. Serological survey of leptospirosis and determination of dominant serotypes of *leptospira* in dairy Cattle around Tabriz 2002-2003. Islamic Azad University of Tabriz. Thesis number 1002 (In Persian).

Gorbani I and Hassanpour A. 2016 Seroprevalence of *Leptospira* interrogans infection in the dairy Cattles in Mahabad area in Iran, International Journal of Advanced Life Sciences 9(2): 212-216.

Haji Hajikolaei MR, Ghorbanpour M and Abdollahpour G, 2005. Serological study of Leptospirosis in Cattle in Ahvaz. Journal Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran 60: 7-15.

Hassanpour A, Monfared N, Abdollahpour G and Sattari S, 2009. Seroprevalence of *leptospiral* infection in horses in Tabriz – Iran, Journal of Bacteriology Research, 1(8):97-100.

Jori F, Galvez H, Mendoza P, Cespedes M and Mayor P, 2009.Monitoring of leptospirosis seroprevalence in a colony of captive collared peccaries (Tayassu tajacu) from the Peruvian Amazon. Research in Veterinary Science 86: 383–387.

Kheshtmasjedi H, 1998. Serological survey of Leptospirosis in Farmers of the Shaft and Fuman County, Lahijan University, Thesis No: 2367 (In Persian).

Levett PN, 2001. Leptospirosis. Clinical Microbiology Reviews 14: 296-314.

Levett PN, 2004. Leptospirosis: A forgotten zoonosis. Clinical and Applied Immunology Reviews 4: 435–448.

Maghami Gh, 1981. The role of leptospirosis causing abortion in the Cattle around Tehran. Publications of Veterinary Organization 20: 50-60.

Park YG, Gordon JC, Bech-Nielsen S and Slemons RD, 1992. Factors for seropositivity to leptospirosis in horses. Prev Vet Med 13: 121-127.

Porth CM, 1990. Pathophysiology concepts of altered health states. J. B. Lippincott company, Pp: 149.

Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ and Leonard FC, 2002. Veterinary microbiology and microbial disease. Blackwell publishing. Pp: 175-184, 453-455, 484.

Constable P, Hinchcliff KW, Done S, Gruenberg W, 2017. Veterinary Medicine – A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats. 11th Edn PP:1115-1129 (Philadelphia: Saunders).

Ramin A.Gh, Abdollahpour Gh, Azizzadeh F, Ghahramani P, Masoudi A and Ramin S, 2013. Seroepidemiological detection of antibodies against leptospira using microscopical agglutination test in Urmia cow and sheep. Iranian Veterinary Journal 9: 54-61 (In Persian).

www.SID.ir

Archive of SID

Ramin A.Gh, Abdollahpour Gh and Irannejad S, 2014. Determination of seroprevalance of leptospira serotypes in Urmia equine. Iranian Journal of Veterinary Clinical Sciences 7(1): 59-66 (In Persian).

Shafighi T, 2006. Seroepidemiological study of leptospirosis in animal in Gilan province. Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran. Thesis, No: 3031.

Tabatabayi AH and Firouzi R, 2001. Diseases of animal due to bacteria. Tehran University Press. Pp: 431-445 (In Persian).

Vandyousefi J, 1994. New findings of Leptospirosis in Razi Vaccine Institute. Pajouhesh va Sazandeghi Jounal 25: 72-75 (In Persian).

Zakeri S, Khorami N, Ganji FZ, Sepahian N, Malmasi A and Gouya M, 2010 *Leptospira* wolffii, a potential new pathogenic *Leptospira* species detected in human, sheep and dog. Research in Veterinary Science 10: 273-277.

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluation of serum infection rate of four common Leptospira serotypes in traditional farms of Tarom city

A Hassanpour[1*], SA Zahed[2] and A Ganjkhanloo[2]

Received: November 23, 2018 Accepted: February 10, 2019

[1]Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
[2]Graduate of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
*Corresponding author: alihassanpour53@gmail.com

Introduction: *Leptospirosis* is a zoonotic disease, which is caused by gram negative and aerobic *leptospira interrogans* and its different serovars. All the pathogenic *leptospirae* were formerly classified as members of the species *Leptospira interrogans*; the genus has recently been reorganized and pathogenic *leptospirae* are now identified in several species of *Leptospira*. *Leptospirosis* is significant occupational hazard in the animal husbandry in certain areas. The majority of infections remain asymptomatic (Constable et al 2017). However, *leptospirosis* as a cause of acute respiratory distress is becoming more frequently recognized. A wide variety of serological tests, which show varying degrees of serogroups and serovar specificity, have been described. Laboratory procedures are used in the diagnosis of *leptospirosis* but two tests have a role in veterinary diagnosis: the microscopic agglutination test (MAT) and ELISA. Cross-reactions caused by exposure to *leptospiros* of the same serogroup can occur in MAT, for example, infection by *L. balcanica* and *L. medanensis* can produce false positive *L. hardjo* reactions (Quinn et al 2002). The MAT has the disadvantages that it is tedious and time consuming, and the use of live culture imposes a risk of human infection. Another disadvantage is the failure of the MAT to differentiate between titres after vaccination and those after natural infection, since the titres may be of similar magnitude. Uveitis is the most frequently encountered clinical manifestation of *leptospirosis* in animal, which appears to be mediated by autoimmune mechanisms involving cross reactivity between ocular tissues and *leptospiral* membrane proteins; however, abortion and stillbirth are serious problems. Many serological studies in different countries were conducted on *leptospirosis* disease which has mostly showed the highest percentage of infection in animal (Hassanpour et al 2009). The aim of the study is to determine the serovars of *leptospira* in Tarom area.

Material and methods: During June to September 2015 for this study, 200 blood samples randomly collected from jugular vein of different animal (47 males and 153 females) of Tarom area (Abbar, Chavarzag County and Daram, Dastjerde Village). None of these animals had been vaccinated against *Leptospira* and there was no history of leptospirosis-related symptoms or signs of the disease at the time of sampling. we have collected 10 ml of blood from the jugular vein of each animal. After taking blood, the tubes were stored at room temperature for 1 - 2 h, so that the blood clots are completely formed, then they were stored at 4˚C in refrigerator. Next morning these tubes were removed from the refrigerator and their serum was extracted using sterile Pasteur pipettes, and serums were transferred to Micro tubes. If there were red blood cells in the extracted serum, the serum would be centrifuged at 3000 rpm for 10 min, and then the pure serums were transferred to Micro tubes. It should be noted that during the transfer, the related numbers were inserted on Micro tubes. The serum micro tubes were frozen at -20˚C, so that the least damage occurs until performing the test. A few hours before MAT test, the samples were removed from the freezer and gradually melted at room temperature and tested by microscopic agglutination test (MAT). The serum samples were tested for antibodies to 4 live serovars of *leptospira Canicola*, *leptospira Grippothyphosa*, *leptospira Pomona*, and *leptospira Icterohaemorrhagiae* using the

www.SID.ir

Archive of SID

microscopic agglutination test. On the basis of age, these animal were divided in 4 groups (<1year old, 1-2-year old, 2-3-year old and 3-4-year old). On the basis of species, these animal were divided in 4 groups (Cattle, Sheep, Goat, and Horse) and on the basis of sex, these animal were divided in 2 groups (male and female). The results were analyzed by chi-square to determine the difference between sexes and different groups of ages.

Results and discussion: In 48 samples (24 percent), including 23 cattles, 7 goats, 15 sheep and 3 horses among the 200 collected samples, infection with *leptospira interrogans* was detected. *Leptospira Grippothyphosa* has the highest percentage 39.59 (19 animal) including 10 cases of cattles, 7 sheep, and 2 horses, followed in descending order by *Icterohaemorrhagiae* (25%), *Pomona* (18.75%), and *canicola* (16.66%). Species of animal was significantly related to the prevalence of *leptosprial* antibodies. In serological tests for leptospirosis such as MAT, the results often indicate infection with more than one serovar. This may be the result of mixed serovar infection, but the existence of cross-reactivity in the MAT between the serovars is well known and can be excluded from this interpretation. The predominant *Leptospira* serovars giving rise serological reaction vary somewhat between countries. Haji Hajikolahi et al. (2005) reported that serovar *Grippothyphosa* is present in 33.33% of positive horses in Ahavaz area in Iran. In Urmia district, serovar *Pomona* is identified as causing about 16.2% of *leptospiral* infection (Abdollahpour et al 2016). The rate of infection in different genders were studied, in which the most affected gender was female animals (16.5 percent) included 16 cattle, 4 goats, 12 sheep, and 1 horse. There was a significant difference between male and female seroprevalence ($P<0.05$), which is in agreement with the report by Abdollahpour et al. (2013) concerning goats in Urmia; and hassanpour et al. (2009) concerning horses in Tabriz. There was no significant relationship between aging and the incidence of *leptospiral* infection in goats, sheep, and horses ($P>0.05$), but there was a significant difference between aging and the incidence of *leptospiral* infection in cattle ($P<0.05$). The most general titer was 1:100 and the rate of infection in different ages were studied, in which the most affected age was 4-3 years, 23 animals (11.5 percent) including 11 cattles, 3 goats, 7 sheep, and 2 horses; which is in agreement with the report by Abdollahpour et al. (2016) concerning Buffalos in Urmia. In serological tests for *leptospirosis* such as MAT, the results often indicate infection with more than one serovar, but in this study, all samples showed a positive reaction to only one type of serovar. This may be the result of mixed serovar infection, but the existence of cross reactivity in the MAT between the serovars is well known and can be excluded from this interpretation. *Leptospiral* antibodies appear within a few days of infection and persist for weeks or months and, in some cases, years. Unfortunately, antibody titres may fall to undetectable levels, while animals remain chronically infected. To overcome this problem, sensitive methods are needed to detect the organism in urine or the genital tract of chronic carriers. The results were analyzed by chi-square to determine the difference between sexes and different groups of age and species of animal was significantly related to the prevalence of *leptosprial* antibodies. Therefore, the demonstration of *leptospirae* in the genital tract and or urine only must be interpreted with full consideration of the serological results and culture or detection of *leptospirae* in blood or body fluids, as these findings may indicate that the animals are carriers.

Conclusion: These results confirmed that *leptospiral* infection may exist in the animal population in Tarom region and the presence of antibodies in the absence of infection indicates exposure to the organism and must be acknowledged. In addition, these results confirmed that the majority of *leptospiral* infections are asymptomatic. Accordingly, prevention of animal *leptospirosis* must rely on good hygiene practices, minimization of rodent contact, and vaccination of other species of production and companion animals. In addition, these results confirmed that the majority of *leptospiral* infections are asymptomatic.

Key Words: Animal, *Leptospira*, serum infection, Tarom

www.SID.ir