بررسی سرولوژیک لپتوسپیروز درگاومیش‌های ارومیه

غلامرضا عبداله‌پور [۱]، علی‌قلی رامین [۲*] و داود ثناجو [۳]

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۹ تاریخ پذیرش: ۹٤/۱۱/٦

[۱]دانشیار گروه بیماریهای داخلی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
[۲]استاد گروه بیماریهای درونی و کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
[۳]دانش‌آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
مسئول مکاتبه:Email: Ali_Ramin75@yahoo.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: لپتوسپیروز یکی از بیماری‌های مشترک و قابل انتقال از دام به انسان بوده که با علایم بالینی تب، زردی، سقط و ادرار خونی شناخته می‌شود. بیماری در مناطق شمالی و جنوب غربی ایران بواسطه وجود گاومیش‌های آذربایجان و خوزستان شیوع بیشتری دارد. **هدف:** ۱- تعیین درصد سرمی ابتلاء گاومیش‌های ارومیه به لپتوسپیراها، ۲- تعیین ارتباط جنس و سن در ابتلا به لپتوسپیروز، ۳- تعیین عیار سرمی و آنتی‌ژن‌های غالب لپتوسپیرا در گاومیش-های ارومیه. **روش کار:** تعداد ۱۳۰ نمونه خون در سال ۱۳۹۰جمع‌آوری و با آزمایش استاندارد آگلوتیناسیون میکروسکپی و با استفاده از پنج سروتیپ زنده لپتوسپیرا پومونا، گریپوتیفوزا، هارجو، کانیکولا، ایکترهموراژیه و بالوم بررسی گردید. **نتایج**: تعداد ٤/٪۲۵ گاومیش‌ها (۲٦/۹٪ نرها و ۲۳/۸٪ ماده‌ها) به یکی از آنتی‌ژن‌های لپتوسپیرا با عیار حداقل ۱:۱۰۰ مثبت نشان دادند. سروتیپ پومونا بیشترین (۱٦/۲٪) و ایکتروهموراژیه کمترین (۱/۵۲٪) واکنش را داشتند. شایع‌ترین عیار سرمی ۱:۱۰۰ با ۲۰٪ (۲٦ نمونه) و بالاترین عیار سرمی ۱:۲۰۰ با ۱۰٪ (۱۳ نمونه) بودند. فراوانی نمونه-های مثبت در گروه سنی زیر ۱/۵ سال کمترین (۱/۵٪) و ۳ تا ٤ سال بیشترین میزان (۱٦٪) را نشان دادند. نتایج نشان می‌دهد که از نظر شیوع سرولوژیک بیماری، اختلاف معنی‌داری بین دو جنس ماده و نر وجود ندارد. **نتیجه‌گیری نهایی:** لپتوسپیروز در بین جمعیت گاومیش‌های ارومیه یک بیماری مطرح و قابل توجه است و از آنجایی‌که این دام اغلب در شرایط مرطوب و باتلاقی نگهداری می‌شود احتمال انتقال بیماری به دام‌های اهلی و انسان زیاد است. لذا با توجه به عدم واکسیناسیون دام‌ها در منطقه لازم است توصیه‌های بهداشتی در خصوص جایگاه دام، زهکشی باتلاق‌ها، مبارزه با جوندگان و اقدامات مراقبتی توسط دامداران و مسئولین دامپزشکی بیشتر مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: لپتوسپیروز، سرولوژی، گاومیش، ارومیه، آگلوتیناسیون میکروسکوپی

مقدمه

لپتوسپیروز بیماری مشترک بین انسان و دام بوده که عموماً گسترش جهانی داشته و نشخوارکنندگان، تک سمی‌ها، شتر، جوندگان و انسان به آن حساس می-باشند (لوت و همکاران ۲۰۰۹). شیوع لپتوسپیروز نه تنها در مناطق گرمسیری و معتدل معمول است بلکه در

مناطق نسبتاً سردسیر نیز ممکن است (الیس ۱۹۸٦). عامل بیماری از اسپیروکت‌های جنس لپتوسپیرا اینتروگانس بوده که با علائم تورم کبد، زردی و نارسایی حاد کلیه شناخته می‌شود (نالی و همکاران ۲۰۰۵، مورای و همکاران ۲۰۰۸). دام‌های حساس علاوه بر ابتلاء می‌توانند ناقلین خفته و مخزن طبیعی باشند (آلدر و دلاپینا ۲۰۱۰). انسان و دام‌های حساس از طریق محیط و آب آلوده به ادرار دام‌های مخزن مبتلا می‌شوند (راجیو و همکاران ۲۰۱۰). اهمیت لپتوسپیروز علاوه بر تهدید بهداشت عمومی، خسارات اقتصادی از طریق کاهش تولید شیر، کاهش وزن، سقط، تولد گوساله‌های ضعیف، کاهش باروری و مرگ می‌باشد (وانگ و همکاران ۲۰۰۹) که هزینه‌های پیشگیری، کنترل و درمان را نیز بر خسارات فوق بایستی افزود (مک-براید و همکاران ۲۰۰۵). مطالعات سرمی در ایران و جهان نشانگر حضور لپتوسپیرا در نشخوارکنندگان مخصوصاً گاو، گوسفند و بز بوده (ذاکری و همکاران ۲۰۱۰)، در گاومیش‌های خوزستانی ۵۸/۷ ٪ (حاجی حاجی‌کلائی ۲۰۰٦) و تبریز ۳۵/۳٪ (طلوعی ۲۰۱٤) آنها دارای واکنش مثبت سرمی بوده که اهمیت بیماری را در مناطق گرمسیری و مرطوب نشان می‌دهد. به همین منظور مطالعات مراقبتی و مداوم بویژه در شمال و غرب خصوصاً قطب گاومیش‌داری کشور مانند گاومیش‌های ارومیه که فاقد هرگونه زمینه و اطلاعات قبلی در رابطه با لپتوسپیروز را الزامی می‌سازد.

لپتوسپیروز به عنوان بیماری قابل انتقال از دام به انسان بوده که مطالعات در این زمینه بر سه اصل انسان، دام و محیط متکی است (وانگ و همکاران ۲۰۰۹) برای تشخیص بیماری از روش‌های مختلفی مانند MAT، الیزا، فلورسنت آنتی‌بادی، کشت و PCR استفاده می‌شود که در بین این روش‌ها MAT بیشتر متداول می‌باشد. آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی از طرف سازمان بهداشت بعنوان استاندارد طلائی پیشنهاد شده و در اغلب آزمایشگاه‌های رفرانس برای تشخیص بیماری مورد استفاده قرار می‌گیرد. معیار تشخیص قطعی لپتوسپیروز در این آزمایش، افزایش تیتر دو برابر در دو نمونه اخذ شده به فاصله ۲ تا ۳ هفته و یا مشاهده تیتر ۱:٤۰۰ و بالاتر در یک نمونه می-باشد. مطالعه گذشته‌نگر نشان می‌دهد میزان واکنش سرمی در گاو، گوسفند و بزهای ارومیه به روش آگلوتیناسیون میکروسکوپی به ترتیب ۳٦٪، ۱۹/۳٪ و ۱۹/۲٪ بوده (رامین و همکاران ۱۳۹۲) در صورتی‌که در نزدیک ترین منطقه به ارومیه مانند تبریز ۳۵/۳٪ (طلوعی ۲۰۱٤) بوده ولی در گاومیش‌های ارومیه تاکنون مطالعه مستندی صورت نگرفته است. منطقه ارومیه بعلت دارا بودن آب‌های سطحی از قدیم الایام مهد پرورش گاومیش بوده بطوری که در شمال غرب گاومیش‌های آذربایجان و در جنوب گاومیش‌های خوزستان در تامین اقتصاد دامداران این مناطق مهم بوده و بواسطه ارتباط نزدیک این دام‌ها با پرورش-دهندگان آنها در صورت بالا بودن میزان آلودگی دام‌ها به لپتوسپیروز خطری جدی برای بهداشت همگانی بوده که مستلزم تعیین وضعیت این بیماری در گاومیش‌های منطقه است. هدف از مطالعه حاضر عبارتند از: ۱- تعیین درصد سرمی ابتلاء گاومیش‌های ارومیه به لپتوسپیراها، ۲- تعیین ارتباط جنس و سن در ابتلا به لپتوسپیروز، ۳- تعیین عیار سرمی و آنتی‌ژن‌های غالب لپتوسپیرا در گاومیش‌های ارومیه.

مواد و روش کار

در طی ماه‌های خرداد تا مهر ۱۳۹۰ تعداد ۱۳۰ نمونه خون از ورید وداجی گاومیش‌های ارجاع شده به کشتارگاه ارومیه با استفاده از لوله ونوجکت اخذ گردید. برای این منظور مقدار ۱۰ میلی‌لیتر خون از هر دام بصورت تصادفی اخذ و در لوله‌های ونوجکت جمع آوری شد. پس از شماره‌گذاری، مشخصات دام‌ها شامل جنس و سن با تکیه بر وضعیت دندان‌ها ثبت شدند. نمونه‌ها به یخچال ٤°C منتقل شده و روز بعد با

استفاده سانتریفوژ بـه میـزان ۳۰۰۰ دور در دقیقـه بـه نمونه های خون به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده، پـس از جداسازی سرم و انتقال بـه لولـه‌هـای اپنـدروف ۱/۵ میلیلیتری تا زمان اجرا آزمایش به فریزر ۲۰°C- منتقل شـدند. بـرای انجـام آزمـایش، سـرم‌هـا بـه آزمایشـگاه تحقیقـاتی لپتوسـپیروز دانشـکده دامپزشـکی دانشـگاه تهران ارسـال و بـا اسـتفاده از آزمـایش آگلوتیناسـیون میکروسکوپی ارزیابی گردیدند. در این مطالعه از ٦ آنتی ژن زنـده لپتوسـپیرایی شـامل سـروتیپ‌هـای پومونـا، گریپوتیفوزا، هارجو، کانیکولا، ایکترهموراژیه و بالوم به صورت جداگانه استفاده شد. گاومیش‌های تحت بررسی از نژاد مشکی و رودخانه‌ای ارومیه بودند.

آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی

چند ساعت قبل از شروع آزمـایش MAT میکروتیـوب-های حاوی نمونه‌های سرم خون از فریـزر خـارج و در دمای آزمایشگاه قرار می‌گرفتند تا بتدریج ذوب شـده و به دمای محیط برسند. سطح لام‌هـای میکروسـکوپی بـه دو ردیف چهارتایی (بـه منظـور آزمـایش هشـت نمونـه سرمی) و یک مستطیل جهت شماره‌گـذاری تقسـیم شـد. ابتدا رقـت ۱:۵۰ از نمونـه‌هـای سـرمی در محلـول بـافر نمکـی فسـفات (PBS) تهیـه شـد. بـرای آزمـایش آگلوتیناسـیون میکروسـکوپی مقـدار ۱۰ میکرولیتـر از آنتی‌ژن آماده یک آنتی‌ژن مشخص در هریـک از مربـع-های لام با ۱۰ میکرولیتـر از سـرم رقـت۱:۵۰ مخلـوط و رقت نهایی ۱:۱۰۰ حاصل شد. این عمل برای پنج آنتـی-ژن دیگر نیز انجام شد. مخلوط آنتی ژن_پادتن به داخل پتری‌دیش حاوی کاغذ مرطوب منتقل و به مدت۹۰ دقیقه در انکوبـاتور ۳۰°C قـرار گرفتـه و سـپس در زیـر میکروسکوپ زمینه سیاه با بزرگ نمائی ۱۰۰× بررسـی گردید. ابتدا نمونه‌های مربوط به کنترل منفـی و کنتـرل مثبت بررسـی شـده و در صـورتی‌کـه بـه ترتیـب فاقـد اگلوتیناسـیون و آگلوتیناسـیون ٤+ مشـاهده مـی‌شـد، نمونه‌ها نیز خوانده می‌شد. نحوه تفسیر آزمـایش بـدین ترتیب بود که چنانچـه ۲۵٪ اجـرام لپتوسـپیرایی در هـر میدان میکروسکوپی آگلوتینه می‌شدند ۱+ (منفی) و اگـر ۵۰٪ آگلوتینـه مـی‌شـدند ۲+ (مشـکوک) و اگـر ۷۵٪ آگلوتینه مـی‌شـد ۳+ (مثبـت) چنانچـه نزدیـک بـه ۱۰۰٪ باکتری‌ها آگلوتینه می‌شدند ٤+ (مثبت) گـزارش مـی‌شـد (حـاجی‌کلایـی و همکـاران ۲۰۰٦، رامـین و همکـاران ۱۳۹۲).

تعیین عیار نهایی نمونه‌های مثبت

به منظور تعیین عیار نهایی سرم‌هایی که در مرحلـه اول مثبـت مـی‌شـدند پـس از تهیـه رقـت‌هـای۱:۱۰۰، ۱:۲۰۰، ۱:٤۰۰ و ۱:۸۰۰ عملیـات عیارسـنجی انجـام مـی‌گرفـت. بالاترین رقتی که در آن میزان آگلوتیناسـیون +۳ یـا +٤ مشاهده می‌شد به عنـوان عیـار نهـایی پـادتن در نمونـه سرمی مورد نظر تعیین می‌گردید. برای تجزیه و تحلیـل داده‌ها از نرم افزار $SPSS_{13}$ و آزمون مربع کای (Chi-Square) استفاده گردید.

نتایج

نمودار ۱ فراوانی سنی گاومیش‌ها را در نرها و ماده‌ها نشان می‌دهد. از مجموع ۱۳۰ راس گاومیش تحت مطالعه تعداد ٦۷ راس نر و ٦۳ راس ماده در ۵ گروه سنی ۱/۵>، ۲، ۳، ٤ و ٤< ساله بودند. جدول ۱ فراوانی آنتی‌ژن‌های مثبت به لپتوسپیرا را در گاومیش‌های نر و ماده نشان می‌دهد. در مجموع ۲۵٪/٤ شامل ۲٦/۹٪ نرها و ۲۳/۸٪ ماده‌ها به یک آنتی‌ژن زنده لپتوسپیرا واکنش مثبت نشان دادند. از این تعداد ۱٦/۲٪ پومونا، ٦/۹٪ گریپوتیفوزا ،۵/٤٪ هارجو و ۱/۵٪ ایکتروهموراژیه بودند. سایر آنتی‌ژن‌های تحت مطالعه مشاهده نشدند (جدول ۱).

جدول ۲ فراوانی و درصد آنتی‌ژن‌های مثبت به لپتوسپیرا در عیارهای ۱:۱۰۰ و ۱:۲۰۰ را در گاومیش-های ارومیه نشان می‌دهد. در عیار۱:۱۰۰ و ۱:۲۰۰ سرووار پومونا به ترتیب با ۱۳/۱٪ و ۳/۱٪ سرووار غالب و سروار ایکتروهموراژیه کمترین آنها بودند. در

بین گاومیش‌های با واکنش سرمی مثبت ۲۰/۸٪ به یک و ٤/٦٪ به دو آنتی‌ژن مثبت بودند (نمودار ۱).

بر اساس نمودار ۲، درصد گاومیش‌های مثبت به لپتوسپیراها در سه سالگی بیشترین (۹٪/۲) و کمتر از ۱/۵ سالگی کمترین بودند. در این مطالعه ۲٦/۹٪ گاومیش‌های نر و ۲۳/۸٪ ماده‌ها به آنتی‌ژن-های لپتوسپیرا مثبت بودند. بوده که از نظر آماری بین سرووارهای لپتوسپیرا در گاومیش‌های نر و ماده (مجذور کای) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

جدول ۱- فراوانی آنتی‌ژن‌های مثبت به لپتوسپیرا در گاومیش‌ها به تفکیک جنس

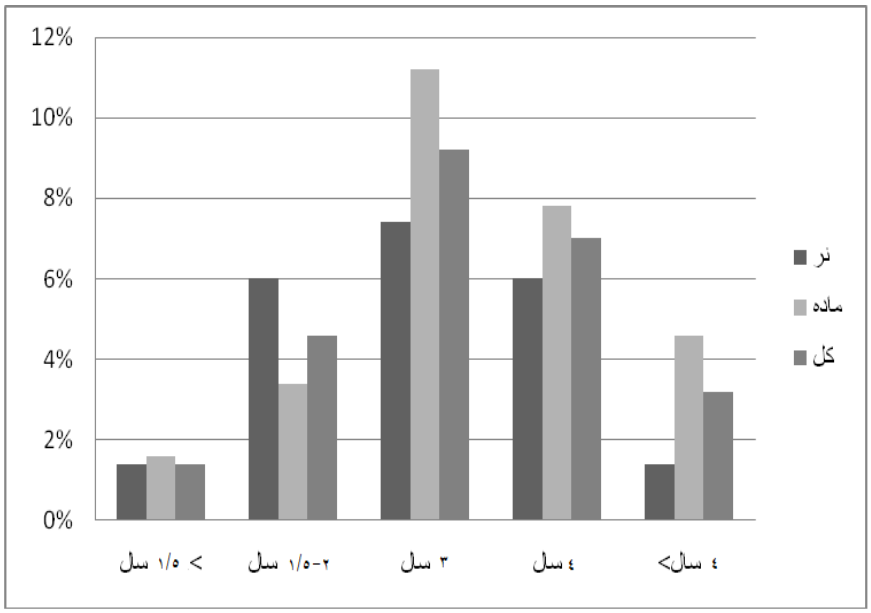
آنتی‌ژن	گاومیش‌های نر		گاومیش‌های ماده		مجموع دام‌ها		
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصداز کل	درصد از مثبت‌ها
پومونا	۱۰	۱٤/۹۲	۱۱	۱۷/٤٦	۲۱	۱٦/۱۵	٦۳/٦۳
گریپوتیفوزا	٦	۸/۹۵	۳	٤/۷٦	۹	٦/۹۲	۲۷/۲۷
هارجو	٤	٦	۳	٤/۷٦	۷	۵/۳۸	۲۱/۲۱
ایکتروهموراژیه	۰	۰	۲	۳/۱۷	۲	۱/۵۳	٦/۰٦

*= آنتی‌ژنهای کانیکولا و بالوم یافت نشدند.

جدول ۲- فراوانی و درصد آنتی‌ژن‌های مثبت به لپتوسپیرا در عیار ۱:۱۰۰ و ۱:۲۰۰ در گاومیش‌های ارومیه

آنتی‌ژن	عیار ۱:۱۰۰		عیار ۱:۲۰۰	
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد
پومونا	۱۷	۱۳/۱	٤	۳/۱
گریپوتیفوزا	٦	٤/٦	۳	۲/۳
هارجو	۲	۱/۵	٤	۳/۱
ایکتروهموراژیه	۱	۰/۰۷٦	۱	۰/۸

شکل ۱- فراوانی موارد مثبت MAT به تفکیک سروتیپ های لپتوسپیرا در گاومیش‌های نر و ماده ارومیه



شکل۲- فراوانی سنی موارد مثبت MAT در گاومیش‌های ارومیه

بحث

لپتوسپیروز بیماری مشترک بین انسان و دام است که توسط سویه‌های مختلف لپتوسپیرا گونه‌ی اینتروگانس ایجاد می‌شود (اسمیت ۱۹۹۹). لپتوسپیروز پراکندگی جهانی داشته، در مناطق با بارندگی زیاد، آب و هوای مرطوب و معتدل، pH نزدیک به ۷، باتلاقهای گوناگون و نیز در مناطقی که فاضلاب‌های شهری جریان دارد بیشتر مشاهده می‌شود. این شرایط تا حدودی در استان آذربایجان غربی و مخصوصاً ارومیه مهیا بوده لذا تهدیدی برای دام‌های منطقه، پرورش‌دهندگان و بهداشت همگانی خواهد بود. اولین گزارش لپتوسپیروز در ایران مربوط به سال ۱۳۳٦ و توسط رفیعی و مقامی بوده که طی آن ابتلا سرمی گاوها تا ۳۱٪ و گوسفندها تا ۱۷٪ به انواع آنتی‌ژن‌های لپتوسپیرا نشان داده شد و سروتیپ‌های ایکتروهموراژیه، کانیکولا، گریپوتیفوزا و بالوم برای اولین بار معرفی شدند (رفیعی و مقامی ۱۳۳۹). پس از آن، بیماری به تدریج در انسان، تک-سمی‌ها، گوشتخواران، گاو و گوسفند در مناطق مختلف ایران گزارش گردید که از طرفی نشانگر ابتلاء دام‌های حساس به لپتوسپیرا بوده و ثانیاً به نظر می‌رسد که مطالعات سرمی کمی در زمینه لپتوسپیروز گاومیش در ارومیه و خوزستان انجام پذیرفته که مستلزم بررسی سرمی بیماری مذکور می‌باشد.

نتایج بررسی حاضر نشان می‌دهد که ۲۵/٤٪ گاومیش-ها واکنش سرمی مثبت داشتند که میزان آن کمتر از شیوع ۳٦٪ در گاوها و بیشتر از شیوع ۱۹/۳٪ گوسفندهای منطقه ارومیه می‌باشد (رامین و همکران ۱۳۹۲). البته در مقایسه با مطالعه حاجی کلایی و همکاران در سال ۱۳۸۵ در استان خوزستان که میزان شیوع سرمی را ۵۸/۷٪ (حاجی‌کلایی و همکاران ۲۰۰٦) و طلوعی در سال ۲۰۱٤ که ۳۵/۳٪ در گاومیش‌ها ذکر نموده‌اند بنظر می‌رسد که شرایط آب و هوایی استان-های خوزستان و آذربایجان شرقی (تبریز) مساعدتر از استان آذربایجان غربی در بقا و انتقال باکتری عامل لپتوسپیروز باشند. نتایج فوق مبین موارد سرمی مثبت و متفاوت از سایر نقاط ایران در نشخوارکنندگان منجمله گاومیش‌های ارومیه باشد. هرچند نتایج سرمی گاومیش‌های ارومیه به لپتوسپیروز کمتر از گاوها و گاومیش‌های سایر مناطق ایران است ولی با توجه به جمعیت زیاد گاوها در مقایسه با گاومیش‌ها همین مقدار میزان شیوع سرمی در گاومیش‌ها نیز قابل توجه بوده و عزم مسئولین اجرایی دامپزشکی و بهداشتی منطقه را در کنترل و پیشگیری بیماری باید راسخ‌تر از گذشته نماید.

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد آنتی‌ژن غالب لپتوسپیرا در گاومیش‌های ارومیه پومونا بوده که با گزارشات رامین و همکاران (۱۳۹۲)، رادوستیتس و همکاران (۲۰۰۷) و لوت و همکاران (۲۰۰۸) که پومونا را در گاو ذکر نموده‌اند مطابقت دارد. البته با نتایج حاصل از مطالعه حاجی‌کلایی و همکاران (۲۰۰٦) در گاومیش-های اهواز که سروتیپ غالب را کانیکولا و طلوعی (۲۰۱٤) در تبریز که گریپوتیفوزا گزارش کرده‌اند کاملاً تفاوت داشته، بنظر می‌رسد شرایط‌های آب و هوایی و جغرافیایی در استان‌های آذربایجان غربی، شرقی و خوزستان از عوامل مهم در بیان این تفاوت‌ها باشند. مطالعات دیگران در گونه گاو نشان می‌دهد که آنتی‌ژن غالب در نقاط مختلف کشور ایران که دارای شرایط گوناگون آب و هوایی و جغرافیایی هستند نیز با هم تفاوت دارد که به‌عنوان نمونه مطالعه حاجی‌کلایی و همکاران (۲۰۰٦) و عبدالله‌پور و همکاران (۲۰۰۹) گریپوتیفوزا، طالب خان گروسی و همکاران (۱۳۸۲) و واحدی نوری و همکاران (۱۳۸۱) ایکتروهموراژیه و ابراهیمی و همکاران (۲۰۰٤) کانیکولا را در گاو ذکر کرده‌اند. عده‌ای از محققین جوندگان را بعنوان مخزن اصلی گریپوتیفوزا ذکر نموده‌اند (بروک و همکاران ۲۰۰۷) که با نتایج مطالعات انجام شده بر روی گاوها در مشهد و مازندران (عبدالله‌پور و همکاران ۲۰۰۹و طالب خان گروسی و همکاران ۱۳۸۲) که سروتیپ غالب

ایکتروهموراژیه و در ارومیه (رامین و همکاران ۱۳۹۲) پومونا بوده مغایرت داشته و نشان می‌دهند که احتمالاً جوندگان می‌توانند مخزن سروتیپ‌های دیگر هم باشند. در این مطالعه اگرچه آنتی‌ژن پومونا و سپس گریپوتیفوزا در گاومیش‌های ارومیه غالب بوده و دقیقاً برعکس یافته‌های طلوعی (۲۰۱٤) در تبریز می‌باشد ولی از نظر فراوانی با گریپوتیفوزا و هارجو تفاوت معنی-داری نداشته بنابراین نقش جوندگان در اپیدمیولوژی بیماری در ارومیه را نباید نادیده گرفت و لازم است تماس دام‌ها با جوندگان محدود و برنامه‌ی کنترل جوندگان را بطور جدی اجرا نمود.

در این مطالعه حساسیت گاومیش‌های نر و ماده به آنتی‌ژن‌های لپتوسپیرا یکسان بوده ولی سنین سه سال اگرچه از نظر آماری معنی‌دار نبوده اما بیشترین موارد مثبت (۲۶٪/۲) را نشان داده که با یافته‌های حاجی‌کلایی و همکاران (۲۰۰٦)، طلوعی (۲۰۱٤) در گاومیش‌ها و طالب خان گروسی و همکاران (۱۳۸۲) در گاو که حساسیت سنی بالای دو سال را معنی‌دار گزارش کرده اند متفاوت است. تعداد یک پنجم موارد مثبت (۸۱/۸٪ به یک آنتی ژن در مقابل ۱۸/۲٪) به دو آنتی‌ژن پاسخ مثبت نشان دادند که با نتایج مطالعات گاوهای منطقه که همچنان ۷۹/۵٪ به یک و ۲۰/۵٪ به بیش از یک آنتی‌ژن مثبت بودند (رامین و همکاران ۱۳۹۲) و یافته‌های حسن‌پور و همکاران (۱۳۸٦) در تبریز مطابقت دارد. همچنین با یافته‌های طلوعی (۲۰۱٤) که در آنتی ژن را در گاومیش گزارش نموده‌اند هماهنگی دارد. نتایج مطالعات فوق در نشخوارکنندگان نشان می‌دهد که در هر منطقه معمولاً یک آنتی‌ژن غالب با فراوانی بالا غالب بوده و بقیه سرووارها در میزان پائین‌تری قرار دارند هم‌چنانکه در گاومیش‌های ارومیه و تبریز نیز چنین بود.

در مطالعه حاضر بالاترین فراوانی مثبت به آنتی‌ژن‌های لپتوسپیرا در عیار۱:۱۰۰ بوده که با نتایج طلوعی (۲۰۱٤) در گاومیش‌های تبریز هم‌خوانی داشته اما از گاوهای ارومیه (رامین و همکاران ۱۳۹۲) و گوسفندها (حسن‌پور و همکاران ۱۳۸٦) و گاوهائی که از ۱:۲۰۰، ۱:٤۰۰ و بالاتر ذکر کرده‌اند متفاوت است. این تفاوت می‌تواند نشانگر این باشد که گاومیش‌ها نسبت به عفونت لپتوسپیراها مقاوم‌تر از سایر نشخوارکنندگان باشند و اغلب فرم مزمن بیماری را با عیارهای پایین-تری بروز دهند حتی در مواردی هم تیتر آنها پایین‌تر از۱:۱۰۰ باشد که در بررسی حاضر منفی تلقی شده‌اند.

علی‌رغم محدودیت‌های موجود در روش MAT، این آزمایش هنوز هم یکی از آزمایشات استاندارد WHO در تشخیص لپتوسپیروز محسوب می‌گردد. برای تشخیص قطعی بیماری لپتوسپیروز بر اساس استاندارد WHO لازم است دو نمونه به فاصله ۲ تا ۳ هفته از دام اخذ شده تا افزایش دو برابری تیتر مشخص گردد و یا اینکه در نمونه اول تیتر سرمی ۱:٤۰۰ و بالاتر بدست آید. نکته دیگر اینکه در روش MAT بیشتر به وجود IgM در سرم حساسیت نشان می‌دهد تا IgG، لذا در تشخیص فرم های مزمن بیماری و نیز در حاملین از حساسیت کمتری برخوردار است. بنظر می‌رسد یکی از علل پایین‌تر بودن میزان شیوع سرمی لپتوسپیروز در گاومیش‌های ارومیه همین نکته باشد و همانگونه که اشاره شد احتمال داده می‌شود که گاومیش‌های منطقه ارومیه احتمالاً بیشتر فرم مزمن بیماری را بروز دهند و در مواردی هم نقش حاملین یا ناقلین پنهان لپتوسپیراها را ایفا کنند که با توجه به محدودیت‌های روش MAT قابل ردیابی نباشند. به همین دلیل در بسیاری از منابع توصیه شده که برای ارزیابی دقیق‌تر بیماری در یک منطقه از دو یا سه روش تشخیصی همزمان با MAT استفاده شود (حاجی‌کلایی و همکاران ۲۰۰۷). در خاتمه می‌توان گفت که واکنش سرمی مثبت به لپتوسپیرا در گاومیش‌های ارومیه وجود داشته که گونه‌های مهم آنها پومونا، گریپوتیفوزا و هارجو می‌باشند. احتمال ابتلا بیش از یک نوع لپتوسپیرا موجود بوده و سرووار پومونا برجسته‌ترین آنها محسوب می‌شود. اکثریت

سروارها با رقت ۱:۱۰۰ واکنش مثبت نشان داده، فاکتور جنس موثر نبوده و ابتلا اکثراً تا سه سالگی بود. در نهایت لپتوسپیروز به‌عنوان یک بیماری مشترک و در راستای ارتقاء بهداشت همگانی اقدامات پیشگیری لازم الاجرا به نظر می‌رسد.

منابع مورد استفاده

اسمیت براد ف ،۱۹۹۹. طب داخلی دامهای بزرگ (ترجمه مرتضی گرجی دوز ، نیما فرزانه ، محمد مهدی علوی، افشین رئوفی، حسام الدین سیفی، غلامرضا افشاری، سید حسین مرجانمهر)، جلد سوم، صفحات ۵۸۵-۵۸٤ (انتشارات نوربخش).

حسن‌پور ع، فرتاش وند م، عبداله پور غ ر، مقدم غ، نادعلیان م ق و ستاری س، ۱۳۸٦. تعیین میزان شیوع سرولوژیک آلودگی به لپتوسپیرا در گاوهای شیری اطراف تبریز. پژوهش و سازندگی، شماره ۷٤، صفحات ٦۷-۷۷.

رامین ع ق، عبداله پور غ ر، عزیززاده ف، قهرمانی پ و رامین س، ۱۳۹۲. جستجوی پادتن های ضد لپتوسپیرا درسرم خون گاوها و گوسفندهای ارومیه. مجله دامپزشکی ایران، دوره ۹، شماره ۳، صفحات ٦۱-٥٤.

رفیعی ع و مقامی غ ر، ۱۳۳۹. لپتوسپیروز در ایران. کنگره پزشکی، رامسر، صفحات ۸-٤.

طالب خان گروسی م، وندیوسفی ج، فامیل قدکچی ه و نوروزیان ا، ۱۳۸۲. بررسی سرواپیدمیولوژی آلودگی لپتوسپیرایی در کارکنان و گله های گاو شیری دامپروریهای اطراف مشهد. مجله دانشکده دامپزشکی تهران، دوره ٥۸ ، شماره ۱، صفحات ۹٤-۸۹.

واحدی نوری ن، وندیوسفی ج و خرسند ن، ۱۳۸۱. مطالعه شیوع پادتن های لپتوسپیرا اینتروگانس در گله های گاو مشکوک استان مازندران. پژوهش و سازندگی، دوره۱٥ ، شماره ۱، صفحات ۱۳-۱٥.

Abdollahpour G, Shafighi ST and Sattari Tabrizi S, 2009 Serodiagnosis of Leptospirosis in cattle in North of Iran, Gilan. International Journal of Veterinary Research 3: 1-10.

Adler D and De La Pena M. 2010. Epidemiology and Pathogenesis of Leptospirosis. pp: 25-27, 88-92 (CAB International).

Brooks FG, Carroll CK, Butel S, Morse J and Stephen A, 2007. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 24th Edn, pp: 235-250 (McGraw-Hill Companies Inc).

Ebrahimi A, Nasr Z and Kojouri GhA, 2004. Seroinvestigation of bovine leptospirosis in Shahrekord district, central Iran. Iranian Journal of Veterinary Research Shiraz University. 5: 111-113.

Ellis WA, 1986. Bovine leptospirosis in the tropics: Prevalence, pathogenesis and control. PreventiveVeterinary Medicine 2: 411- 421.

Haji Hajikolaei MR, Gorbanpour M and Abdollahpour G, 2006. Seroprevalence of Leptospiral Infection in Buffalo (*Bubalus bubalis*). Bull Veterinary Institute Pulawy 50: 341-344

Hajikolaei MRH, Ghorbanpour M, Gharibi D and Abdollapour GR, 2007. Serologic study on leptospiral infection in sheep in Ahvaz, southwestern Iran.: Iranian Journal of Veterinary Research 8: 333-336.

Levett P N, Haake DA, Mandel GL, Bennett J E and Raphael D, 2009. Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th Edn, PP: 2789-2795 (Churchill Livingstone Elsevier).

McBride AJ, Athanazio DA, Reis M G and Ko AI, 2005. Leptospirosis. Current Opinion in Infectious Diseases 18: 376–386.

Murray GL, Katherine M, Ellis M and Ben A, 2008. Leptospira interrogans requires a functional heme oxygenase to scavenge iron from hemoglobin. Microbiology Infection 10: 12-26.

Nally E, Jarlath CE, Fishbein CM, Blanco RD and Lovett AM 2005. Changes in Lipopolysaccharide O Antigen Distinguish Acute versus Chronic *Leptospira interrogans* Infections. Infection Immunology 73: 3251–3260.

Radostits OM., Gay CC, Hinchcliff KW, Veterinary Medicine – A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats. 10. ed. Philadelphia: Saunders, 2007. PP:1094-1110.

Rajeev S, Berghaus RD, Overton MW, Pence ME and Baldwin CA, 2010. Comparison of fluorescent antibody and microscopic agglutination testing for Leptospira in pregnant and nonpregnant cows. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 22: 51-54.

Tolouei M, 2014. Prevalence of Serum Antibodies against Six Leptospira Serovars in Buffaloes in Tabriz, Northwestern Iran. Journal of Buffalo Science 3: 76-81.

Wong-ekkabut J, Chadsuthi S, Triampo W, Doungchawee Galayanee TD and Krittanai C, 2009. Leptospirosis research: Response of pathogenic spirochete to ultraviolet-A irradiation. African Journal Biotechnology 8: 3341-3352.

Zakeri S, Khorami N and Ganji ZF, 2010. *Leptospira wolffii*, a potential new pathogenic Leptospira species detected in human, sheep and dog. Infection Gentic Evoution 10: 273-277.

Seroinvestigation of buffaloes leptospirosis in Urmia district

Gh Abdollahpour[1], A Ramin[2*] and D Sanajou[3]

Received: December 30, 2014 Accepted: January 26, 2016

[1]Associate Professor, Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
[2] Professor, Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, Veterinary College, Urmia University, Urmia, Iran
[3]Veterinary Graduated Student, Veterinary College, Urmia University, Urmia, Iran
[*]Corresponding author: Email: Ali_Ramin75@yahoo.com

Abstract

BACKGROUND: Leptospirosis is one of the bacterial zoonotic diseases among human and animals which determines by fever, jaundice and haemoglobinuria. Disease is common in north and southwest of Iran where buffaloes breeding widely called as Khozestan and Azarbyjan buffaloes. **OBJECTIVES:** Determination of the percentage of seropositive to leptospira infection in buffaloes. Age and gender relationships in leptospirosis. 3- Determination of serum titer and predominant leptospira antigens in Urmia buffaloes. **METHODS:** 130 blood samples were collected in Urmia abattoir in 2011. Sera were separated and serological reaction to leptospira spp was assessed by microscopic agglutination test using live antigens representing leptospira interrogans serogroups: pomona, grippotyphosa, canicola, hardjo, icterrohaemoragia, and ballum. Overall, 25.4% including 26.9% males and 23.8% females with titer of 1:100 had positive reaction to one of the leptospira serovars. Among positive serovars the greatest was pomona (16.2%) and the lowest was icterohaemorrhagiae (1.52%). The most prevalent titer of leptospira was 1:100 included 20% (26 samples) and the highest was 1:200 included 10% (13 samples) of buffaloes. The age distribution in seropositive buffaloes with <1.5 year was the lowest (1.5%) and 3 to 4 years old was the highest (16%). Statistical results also showed the seropositive prevalence to leptospirosis among males and females were not significantly different. **CONCLUSIONS:** The seropositive to leptospira in Urmia buffaloes must be considered as an important disease and special attention is necessary due to the probable transmission of disease to other buffaloes and human. Thus, in the lack of vaccination programs for animals, the administration of hygienic methods, rodenticides and preventive procedures must be applied by farmers and veterinary organization.

Keywords: Leptospirosis, Serology, Buffaloes, Urmia, MAT