جستجوی پادتن‌های ضد لپتوسپیرا در سرم خون گاو و گوسفندان ارومیه

علیقلی رامین[۱*]، غلامرضا عبداله‌پور[۲]، فرید عزیززاده[۳]، پریا قهرمانی[۳]، امیر مسعودی[۴] و سینا رامین[۵]

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۶

خلاصه

لپتوسپیروز یکی از شایع‌ترین بیماری مشترک بین انسان و دام از حدود نیم قرن پیش بوده که تا کنون گزارش‌های مختلفی از وقوع آن در انسان و دام‌ها گزارش شده است. بررسی انجام شده در بسیاری از نقاط ایران حاکی از افزایش شیوع آن در بین جمعیت مذکور است. هدف از مطالعه حاضر تعیین میزان شیوع سرولوژیک لپتوسپیرا در گاوها و گوسفندها در ارومیه بود. برای این منظور نمونه خون از تعداد ۲۰۳ راس گاو و ۱۶۶ راس گوسفند در کشتارگاه ارومیه نمونه‌های خون گرفته شد. سرم‌های خون با روش استاندارد جدا و تا زمان انجام آزمایش‌های سرولوژیک در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌ها با آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی (MAT) و با استفاده از سروتیپ‌های پومونا، گریپوتیفوزا، هارجو، کانیکولا، ایکترهموراژیه و بالوم ارزیابی شدند. در مجموع ۳۶٪ گاوها و ۱۹/۳٪ گوسفندها شامل ۳۳/۸٪ گاوهای نر، ۴۰/۵٪ گاوهای ماده، ۱۸/۳٪ قوچ‌ها و ۲۵٪ میش‌ها واکنش سرمی مثبت به انواع سرمی زنده لپتوسپیرا را نشان دادند. در بین واکنش سرمی مثبت گاوها، ۲۲/۷٪ پومونا، ۱۳/۸٪ گریپوتیفوزا و ۸/۴٪ هارجو و گوسفندها ۶۶/۷٪ گریپوتیفوزا، ۲۶/۲٪ پومونا و ۷/۱٪ کانیکولا بودند. میزان ۱۸/۲٪ گاوهای مثبت، عیار ۱:۱۰۰ و ۲۶/۶٪ عیار ۱:۲۰۰ و در گوسفندها ۱۳/۶٪ عیار ۱:۱۰۰ و ۸٪ عیار ۱:۲۰۰ و ۲/۳٪ عیار ۱:۴۰۰ داشتند. در بین گاوها ۲۸/۶٪ آلودگی به یک سرووار، ۵/۹٪ به دو سرووار و ۱/۵٪ آلوده به سه سرووار بوده و در گوسفند ۱۳/۳٪ به یک سرووار و ۶٪ به دو سرووار واکنش مثبت نشان دادند. مقایسه فراوانی سنی گاوهای با واکنش سرمی مثبت نشانگر افزایش موارد مثبت با افزایش سن بوده ($P<0/05$) ولی اختلاف معنی‌داری در بین نر و ماده وجود نداشت. بنابراین فاکتور جنس در ابتلاء به لپتوسپیرا مؤثر نبوده اگرچه ابتلاء در ماده‌ها بیشتر از نرها بود ولی با افزایش سن میزان ابتلاء در گاوها افزایش داشت. مقایسه فراوانی سرووارها بیانگر غالب بودن ابتلاء به پومونا در گاو و گریپوتیفوزا در گوسفندها بود. در مجموع، واکنش سرمی مثبت به لپتوسپیرا در گاوهای ارومیه حدود ۲ برابر گوسفند بود. اغلب دام‌ها به یک سرووار مبتلا بوده و ابتلاء به بیش از یک سرووار در گاو بیشتر از گوسفند دیده شد. نتیجه‌گیری اینکه لپتوسپیروز به عنوان یک بیماری مشترک در گاوهای ارومیه شایع‌تر از گوسفند بوده و ضروری است تمهیدات لازم جهت مبارزه با بیماری از طریق تعیین دقیق وضعیت بیماری، سویه‌های شایع در منطقه و جداسازی و شناسایی آنها در نظر گرفته شود.

کلمات کلیدی: لپتوسپیروز، سرولوژی، گاو، گوسفند، MAT

مقدمه

لپتوسپیروز یک بیماری مشترک با گسترش جهانی بوده که نشخوارکنندگان اهلی و وحشی، تک سمی‌ها، جوندگان و انسان را درگیر می‌کند. سرووارهای بیماری‌زای گونه *لپتوسپیرا اینتروگانس* عامل بیماری ذکر شده‌اند. مطالعات اپیدمیولوژیکی متعدد، لپتوسپیروز را شایع‌ترین بیماری مشترک در مناطق گرمسیری معرفی نموده‌اند. اهمیت بیماری علاوه بر تهدید بهداشت عمومی، مربوط به ایجاد خسارات اقتصادی از جمله افت

[۱*] دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه E-mail: Ali_Ramin75@yahoo.com (نویسنده مسئول)

[۲] دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

[۳] دانش‌آموخته دکتری عمومی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[۴] دکتری دامپزشکی، شبکه دامپزشکی ارومیه، سازمان دامپزشکی، آذربایجان غربی

[۵] دانشجوی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

شدید تولید شیر، سقط جنین، تولد گوساله‌های ضعیف، کاهش وزن، اختلال در باروری و سرانجام هزینه‌های سنگین پیشگیری، کنترل و درمان است (Radostits et al. 2007).

ادرار جوندگان و حیوانات مبتلا، اصلی‌ترین مخزن انتقال بیماری بوده ولی گاو، گوسفند و سگ نیز از ناقلین بدون علامت و مخازن بیماری در طبیعت هستند (Radostits et al. 2007). ابتلاء از طریق آب آشامیدنی آلوده به ادرار دام‌های مخزن نیز گزارش شده و موجب زردی و نارسایی کلیوی در انسان می‌شود. تب، زردی، سقط جنین، هموگلوبینوری، صورتی رنگ شدن شیر در گاو و سقط، مرده‌زائی، آگالاکسی و مرگ قبل از تولد در گوسفند از نشانه‌های مهم بیماری می‌باشند (Radostits et al. 2007). بیماری در گاو (Schonman and Swai 2010)، گاومیش (De Nardi Junior et al. 2010) و گوسفند (Tooloei et al. 2008) به دفعات گزارش شده است. سندرم ویل، تب پاییزی، تب باتلاق، تب کانیکولا، تب شالیزار، بیماری اشتوتگارت و بیماری آب قرمز گوساله‌ها از عناوین دیگر این بیماری در انسان یا دام هستند (Radostits et al. 2007).

تشخیص و تأیید بیماری با توجه به علائم بالینی و روش‌های آزمایشگاهی نظیر آزمون الایزا (Schonman and Swai 2010)، PCR (Lilenbaum et al. 2009) و MAT (Rajeev et al. 2010) بوده که MAT و الایزا رایج‌ترین آنها بوده و گسترش جهانی لپتوسپیرا را نشان می‌دهند. نظر به اینکه لپتوسپیروز بیماری مشترک می‌باشد، مطالعات خاصی در رابطه با اپیدمیولوژی و کنترل آن انجام شده است. زمینه این مطالعات بر سه اصل انسان، دام و محیط متکی بوده و از این رو روش‌های متعدد بر مبنای استفاده از آب‌های جاری، خون انسان و دام، ادرار و بافت‌های درگیر به منظور غربالگری در جهان پایه‌گذاری شده است. در کل، میزان آلودگی سرمی به لپتوسپیرا به روش MAT در گاو تا ۵۶/۶٪ و گوسفند تا ۱۷/۳٪ (Zakeri et al. 2010) بوده که سرووارهای ایکترهموراژیه، کانیکولا و پومونا غالب‌ترین آنها گزارش شده‌اند. از آنجا که وضعیت سرواپیدمیولوژیکی لپتوسپیروز در گاوها و گوسفندهای ارومیه با توجه به جمعیت وسیع دامی به روش MAT نامشخص بود، هدف از این مطالعه بررسی مقایسه‌ای شیوع سرولوژیکی لپتوسپیروز در گاوها و گوسفندهای ارومیه با توجه به سن، جنس و نوع سرووارهای شایع بود.

مواد و روش کار

جمع‌آوری نمونه‌ها

از تعداد ۲۰۳ رأس گاو در ماه‌های خرداد، تیر، مرداد و شهریور ۱۳۸۸ و ۱۶۶ راس گوسفند در ماه‌های بهمن، اسفند، فروردین و اردیبهشت۹۰-۱۳۸۹ در کشتارگاه ارومیه نمونه‌گیری شد. برای این کار میزان ۱۰ میلی‌لیتر خون در هنگام کشتار دام در لوله آزمایش جمع‌آوری و پس از شماره‌گذاری، مشخصات دام‌ها شامل جنس دام و سن با تکیه بر وضعیت دندان‌ها ثبت شدند. از مجموع ۲۰۳ راس گاو تعداد ۱۱۹ راس نر و ۸۴ راس ماده و از ۱۶۶ راس گوسفند ۱۴۲ راس قوچ و ۲۴ راس میش بودند. تعداد گاوهای با سن ۱/۵>، ۲-۱/۵، ۳، ۴ و ۴< به ترتیب ۱۵، ۲۴، ۶۱، ۷۹ و ۲۴ راس و قوچ‌ها ۱/۵> ساله و میش‌ها ۴ ساله و بیشتر بودند. نمونه‌ها به یخچال ۴°C منتقل شده در دور ۳۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و سرم آنها جدا شد. سرم‌ها به میکروتیوب-های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل و پس از شماره‌گذاری در ۲۰°C- فریزر شدند. نمونه‌ها به آزمایشگاه تحقیقاتی لپتوسپیروز دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ارسال و با استفاده از آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی (MAT) ارزیابی گردیدند. در این مطالعه از ۶ سرووار شایع و بیماری‌زا در ایران شامل پومونا، گریپوتیفوزا، هارجو، کانیکولا، ایکترهموراژیه و بالوم به صورت جداگانه استفاده شد. گاوهای تحت بررسی از نژاد هلشتاین و گوسفندها از نژادهای ماکوئی و قزل بودند.

آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی (MAT)

سرم‌ها از فریزر خارج و در دمای محیط رفع انجماد شدند. سطح لام‌های میکروسکوپی به دو ردیف چهارتایی (به منظور آزمایش هشت نمونه سرمی) و یک مستطیل جهت شماره‌گذاری تقسیم شد. رقت ۱:۵۰ از نمونه‌های سرمی در محلول بافر نمکی فسفات (PBS) تهیه شد. آزمایش MAT به صورت زیر انجام گرفت. مقدار ۱۰ میکرولیتر از آنتی‌ژن آماده یک سروار مشخص در هر یک از مربع‌های لام با ۱۰ میکرولیتر از هشت نمونه سرم مختلف با رقت ۱:۵۰ مخلوط و رقت ۱:۱۰۰ حاصل شد. این عمل برای پنج سروار دیگر نیز انجام شد. مخلوط آنتی‌ژن – پادتن به داخل پتری دیش حاوی کاغذ مرطوب منتقل و به مدت۹۰ دقیقه در انکوباتور ۳۰° C قرار گرفته و در زیر میکروسکوپ زمینه سیاه با بزرگ نمائی ۱۰۰× بررسی گردید. در صورتی که کنترل منفی و کنترل آنتی‌ژن، فاقد اگلوتیناسیون بوده ولی در کنترل مثبت آگلوتیناسیون ۴+ رخ می‌داد، نمونه‌ها نیز خوانده می‌شد و در صورتی که ۲۵٪ اجرام لپتوسپیرایی در هر میدان میکروسکوپی آگلوتینه می‌شدند ۱+ (منفی) و اگر ۵۰٪ آگلوتینه می‌شدند ۲+ (مشکوک) و در صورتی که ۷۵٪ و یا ۱۰۰٪ آگلوتینه می‌شدند ۳+ و ۴+ (مثبت) گزارش می‌شد (عبداله‌پور ۱۳۷۸).

تعیین عیار نهایی نمونه‌های مثبت

به منظور تعیین عیار نهایی سرم‌هایی که در مرحله اول مثبت می‌شدند، پس از تهیه رقت‌های ۱:۱۰۰، ۱:۲۰۰، ۱:۴۰۰ و ۱:۸۰۰ عملیات عیارسنجی انجام می‌گرفت. بالاترین رقتی که در آن میزان آگلوتیناسیون +۳ یا +۴ مشاهده می‌شد به عنوان عیار نهایی پادتن در نمونه سرمی مثبت تعیین می‌گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار $SPSS_{13}$ و آزمون مربع کای (Chi-Square) استفاده گردید.

نتایج

از تعداد ۲۰۳ نمونه سرم گاو (۱۱۹ رأس نر، ۸۴ رأس ماده) تعداد ۷۳ نمونه (۳۶٪) شامل ۳۹ رأس نر (۳۲/۸٪ از نرها) و ۳۴ رأس ماده (۴۰/۵٪ از ماده‌ها) و از ۱۶۶ نمونه سرم گوسفند تعداد ۳۲ نمونه (۱۹/۳٪) شامل ۲۶ راس نر (۱۸/۳٪ از نرها) و ۶ راس ماده (۲۵٪ از ماده‌ها) واکنش سرمی مثبت به حداقل یک سروار لپتوسپیرا را نشان دادند.

جدول ۱ فراوانی مطلق و درصد آلودگی سرمی به هریک از سرووارهای مثبت را در گاو و گوسفند نشان می‌دهد. از گاوهای با واکنش سرمی مثبت، تعداد ۴۶ راس (۲۲/۷٪) به پومونا، ۲۸ راس (۱۳/۸٪) به گریپوتیفوزا و ۱۷ راس (۸/۴٪) به هارجو و از گوسفندها ۳ راس (۷/۱٪) به کانیکولا، تعداد ۲۸ راس (۶۶/۷٪) به گریپوتیفوزا و ۱۱ راس (۲۶/۲٪) به پومونا آلوده بودند. واکنش به سایر سرووارها در نمونه‌های مورد بررسی یافت نشد. شیوع سرمی آلودگی به پومونا در گاو و گریپوتیفوزا در گوسفند غالب بود. فراوانی عیار پادتن‌های ضد لپتوسپیرا (جدول ۲) نشان می‌دهد که عیار ۱:۲۰۰ در گاو و ۱:۱۰۰ در گوسفند غالب بودند.

در گاو، تعداد ۵۸ راس (۲۸/۵۷٪) به یک سروار، ۱۲ راس (۵/۹۱٪) به دو سروار و ۳ راس (۱/۴۸٪) به سه سروار واکنش سرمی نشان داده‌اند در صورتی که ۲۲ راس گوسفند (۶۸/۷٪) به یک و ۱۰ راس گوسفند (۳۱/۳٪) به دو نوع سروار واکنش نشان داده‌اند (جدول ۳). فراوانی سرمی بیماری در گاو در ۴ سالگی و در گوسفند در زیر ۱/۵ سال بیشتر از سایر رده‌های سنی بود (جدول ۴) و آزمون آماری ارتباط بین سن و آلودگی سرمی به لپتوسپیرا را فقط در گاو ($P<0/05$) نشان داد. واکنش چندگانه سرم گوسفند به سرووارهای لپتوسپیرا نشان می‌دهد که در اکثریت موارد گریپوتیفوزا با پومونا و سپس گریپوتیفوزا با کانیکولا و پومونا با کانیکولا همراه

بوده‌اند. آزمون آماری (Chi-Square) نشان داد که فراوانی سروواروها در بین جنس‌های نر و ماده در گاو و گوسفند اختلاف معنی‌داری ندارد و جنس در حساسیت به لپتوسپیروز در گاو و گوسفند مؤثر نمی‌باشد.

جدول ۱: فراوانی آلودگی سرمی به سروواروهای مختلف لپتوسپیرا در گاو و گوسفندان ارومیه به تفکیک جنس

سروواروها*	جنس نر		جنس ماده		مجموع دام‌ها		
	فراوانی	درصد نرها	فراوانی	درصد ماده ها	فراوانی	درصد کلی	درصد از مثبت‌ها
گاو							
پومونا	۲۳	٪۱۹/۳	۲۳	٪۲۷/۴	۴۶	٪۱۸/۲	٪۵۱
گریپوتیفوزا	۱۲	٪۱۰/۱	۱۶	٪۱۹/۱	۲۸	٪۱۱	٪۳۱
هارجو	۱۳	٪۱۰/۹	۴	٪۴/۸	۱۷	٪۶/۸	٪۱۸
مجموع	۴۸	٪۸۳/۳	۴۳	٪۱۶/۷	۹۱	٪۳۶	٪۱۰۰
گوسفند							
گریپوتیفوزا	۲۳	٪۵۴/۸	۵	٪۱۱/۹	۲۸	٪۱۲/۷	٪۶۶/۷
پومونا	۹	٪۲۱/۴	۲	٪۴/۸	۱۱	٪۵/۲۵	٪۲۶/۲
کانیکولا	۳	٪۷/۱	۰	۰	۳	٪۱/۳۵	٪۷/۱
مجموع	۳۵	٪۸۳/۳	۷	٪۱۶/۷	۴۲	٪۱۹/۳	٪۱۰۰

* آلودگی به سروواروهای ایکتروهموراژیه و بالوم یافت نشد.

جدول ۲: فراوانی عیار پادتن‌های ضد لپتوسپیرا به تفکیک سرووار در گاو و گوسفندان ارومیه به تفکیک جنس

سروواروها	پومونا		گریپوتیفوزا		هارجو		مجموع
تیتر نهایی	نر	ماده	نر	ماده	نر	ماده	
	گاو						
۱:۱۰۰	۱۰	۱۰	۵	۱۱	۱	–	۳۷
۱:۲۰۰	۱۳	۱۳	۷	۵	۱۲	۴	۵۴
مجموع	۲۳	۲۳	۱۲	۱۶	۱۳	۴	۹۱
	گوسفند						
	پومونا		**گریپوتیفوزا**		**کانیکولا**		
۱:۱۰۰	۷	۱	۱۵	۲	۲	–	۲۷
۱:۲۰۰	۱	–	۸	۱	۱	–	۱۱
۱:۴۰۰	۱	۱	۱	۱	–	–	۴
مجموع	۹	۲	۲۴	۴	۳	–	۴۲

جدول ۳: فراوانی آلودگی سرمی چندگانه به سروارهای لپتوسپیرا در گاو و گوسفندان ارومیه

تعدد سرووار	فراوانی		درصد از کل جمعیت		درصد از مثبت ها	
	گاو	گوسفند	گاو	گوسفند	گاو	گوسفند
۱ سرووار	۵۸	۲۲	٪۲۸/۵۷	٪۱۲/۳	٪۷۹/۴۵	٪۶۸/۷
۲ " "	۱۲	۱۰	٪۵/۹۵	٪۶	٪۱۶/۴۴	٪۳۱/۳
۳ " "	۳	----	٪۱/۴۸	----	٪۴/۱۱	----
جمع	۷۳	۳۲	٪۳۶	٪۱۹/۳	٪۱۰۰	٪۱۰۰

جدول ۴: آلودگی سرمی به لپتوسپیروز در گاو و گوسفندان ارومیه به تفکیک سن

دام‌ها	گاو			گوسفند		
سن	نر	ماده	جمع	نر	ماده	جمع
<۱/۵	۲	۳	۵	۱۹	–	۱۹
۱/۵–۲	۳	۸	۱۱	–	–	–
۳	۱۳	۷	۲۰	–	–	–
۴	۱۶	۱۴	۳۰	–	۲	۲
>۴	۵	۲	۷	–	۴	۴
جمع	۳۹	۳۴	۷۳	۲۶	۶	۳۲

بحث

لپتوسپیروز بیماری مشترک بین انسان و دام است که بهداشت همگانی را تهدید می‌کند. این بیماری در مناطق با میزان بارندگی زیاد، آب و هوای مرطوب و معتدل، باتلاقی و فاضلاب شهری دیده می‌شود. لپتوسپیروز انسانی که بنام تب شالیزار (تب بیجار) معروف است در حاشیه دریای خزر و استان گیلان بومی (آندمیک) است (هنرمند و همکاران ۱۳۸۴). بیماری در ایران در سال ۱۳۳۹ با آلودگی انواع سرووارهای ایکترهموراژیه، کانیکولا، گریپوتیفوزا و بالوم در گاو مشخص گردیده سپس در تک‌سمی‌ها، گوشتخواران و نشخوارکنندگان مناطق مختلف ایران با میزان بالای شیوع سرمی لپتوسپیروز نشان داده شد (Zakeri et al. 2010, Ebrahimi et al. 2004).

در مطالعه حاضر ۳۶٪ گاوها و ۱۹/۳٪ گوسفندها واکنش سرمی مثبت داشتند که در مقایسه با مطالعات زینالی و همکاران در سال ۱۳۷۹ که آلودگی گاو را ۶۲/۵٪ و گوسفند را ۴۲/۶٪ گزارش کرده‌اند، کمتر بوده و بیانگر کاهش فراوانی بیماری نسبت به سال‌های گذشته است. مطالعات مشابه در سایر مناطق کشور نیز حاکی از آلودگی بالای گاو و گوسفند است. میزان آلودگی گاو در برخی مناطق کشور بررسی شده که در شهرکرد ۱۸/۷۵٪ (Ebrahimi et al. 2004)، مشهد ۲۳/۹٪ (طالب‌خان‌گروسی و همکاران ۱۳۸۲) و اهواز ۵۳/۷۵٪ (حاجی‌حاجیکلائی و همکاران ۱۳۸۴) بوده است. میزان آلودگی گوسفند در اهواز ۱۵/۴٪ (عبداله‌پور ۱۳۸۷) و تبریز ۱۸/۴٪ (Tooloei et al. 2008) گزارش شده است. مقایسه نتایج حاصل از مطالعه کنونی با مطالعات مشابه در مناطق مختلف کشور نشان می‌دهد که علی‌رغم تفاوت‌های نسبی، میزان آلودگی به لپتوسپیرا در گاو و گوسفند ارومیه نیز بالاست.

در این مطالعه فراوانی سرووارهای لپتوسپیرا در گاوها به ترتیب پومونا، گریپوتیفوزا و هارجو و در گوسفند

گریپوتیفوزا، پومونا و کانیکولا می‌باشند. نتایج تحقیق حاضر در گاو با گزارشات Levett (۲۰۰۱) مطابقت داشته ولی با نتایج دیگر نقاط ایران متفاوت است (طالب‌خان‌گروسی و همکاران ۱۳۸۲). سروارهای غالب و مشابه این مطالعه توسط حسن‌پور و همکاران در سال ۱۳۸۶ گزارش شده، اگرچه سروارهای ایکتروهموراژیه در مازندران، شیراز و مشهد (طالب‌خان‌گروسی و همکاران ۱۳۸۲)، کانیکولا در شهرکرد (Ebrahimi et al. 2004) و هارجو در اهواز (Hajikolaei et al. 2007) نیز ذکر شده‌اند. در سالیان گذشته سرووار غالب ارومیه گریپوتیفوزا بوده که در گوسفند ثابت مانده ولی در گاو به پومونا تغییر یافته است (زینالی و همکاران ۱۳۷۹). تفاوت در سروارهای غالب در مناطق مختلف می‌تواند ناشی از تعداد نمونه‌های آزمایش شده در هر منطقه، تفاوت زمان و یا فصل نمونه‌گیری و تفاوت در مخزن بیماری در مناطق مختلف باشد (Abdollahpour et al. 2009). نتایج مطالعات موجود نشان می‌دهد که میزان شیوع سرووارها و سرووار غالب در مناطق مختلف ایران متغیر می‌باشد. گرچه پومونا وگریپوتیفوزا در مطالعه حاضر بیشتر از هارجو است، اما این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود.

بر اساس نتایج این مطالعه هر دو جنس نر و ماده در گاو و گوسفند به یک اندازه به لپتوسپیرا حساس بودند، که با مطالعه Agunloye (۲۰۰۲) در نیجریه هم‌خوانی دارد. در مطالعه حاضر شیوع سرمی آلودگی به لپتوسپیرا در گاوهای بالغ ۳ تا ۴ ساله بیشتر بود که با یافته‌های گروسی و همکاران (۱۳۸۲) مطابقت دارد. وقوع سقط، ورم پستان لپتوسپیرائی (Radostits et al. 2007) و جداسازی مکرر عامل از اسپرم و مایعات واژن (Meenak-Shisundaram and Chellapandian 2008) دال بر حساسیت گاوهای بالغ به لپتوسپیرا می‌باشد.

اکثر گاوها (۷۹/۵٪) و گوسفندهای (۶۸/۷٪) این مطالعه به یک سرووار واکنش نشان دادند، اما ابتلاء تا ۳ نوع سرمی در گاو و ۲ نوع سرمی در گوسفند نیز مشاهده شد. طلوعی و همکاران در سال ۲۰۰۸، حسن‌پور و همکاران در سال ۱۳۸۶، زینالی و همکاران در سال ۱۳۷۹، Ebrahimi و همکاران در سال ۲۰۰۴ و حاجیکلایی و همکاران در سال‌های ۱۳۸۴ و ۲۰۰۷ ابتلاء تا ۵ سرووار را ثبت نموده‌اند که در مطالعات جهانی کمتر دیده می‌شود. واکنش هم‌زمان به گریپوتیفوزا/پومونا، گریپوتیفوزا/کانیکولا و پومونا/کانیکولا با رقت‌های ۱:۱۰۰ و ۱:۲۰۰ در این مطالعه می‌تواند دلیلی بر ابتلاء همزمان به سروتیپ‌ها باشد. مشاهده عیار سرمی ۱:۲۰۰ برای گاو و ۱:۱۰۰ برای گوسفند در مقایسه با نتایج دیگران (حسن‌پور و همکاران ۱۳۸۶) تا ۱:۴۰۰ و حتی ۱:۱۶۰۰ بسیار ناچیز بوده و نشان‌گر آلودگی سرمی ضعیف به لپتوسپیرا در ارومیه در مقایسه با سایر نقاط ایران است.

نتایج مطالعات ۱۰ سال گذشته در ایران نشان‌گر افزایش شیوع بیماری علی‌رغم بهبود شرایط بهداشتی است. یکی از علل مهم آن چند چهره بودن بیماری است. در نتیجه تائید موارد بالینی انجام آزمایش‌های سرمی خصوصاً آزمایش MAT را طلب می‌نماید (Rajeev et al. 2010). این روش در صورت وجود انواع سرمی لپتوسپیرای زنده در آزمایشگاه روشی مطلوب با کارآیی خوب می‌باشد در غیر این صورت جایگزین‌های مناسب روش‌های الیزا، PCR و FA (Radostits et al. 2007 ، Cousins et al. 1991) هستند. مزیت آزمایش MAT دقت و سرعت در تشخیص بیماری در ۱۵ روز اول ابتلاء است. امروزه برای تشخیص و غربالگری بیماری از تلفیق آزمون‌های MAT و PCR استفاده می‌کنند (Vitale et al. 2005, Lilenbaum et al. 2009) . نتیجه‌گیری نهائی آنکه لپتوسپیروز در گاو و گوسفندهای ارومیه شایع بوده به عنوان یک بیماری مشترک بین انسان و دام، نیازمند اتخاذ اقدامات پیشگیرانه در راستای ارتقاء بهداشت همگانی می‌باشد.

منابع

حاجی‌حاجیکلایی محمدرحیم، قربانپورنجف‌آبادی مسعود و عبداله‌پور غلامرضا (۱۳۸۴). بررسی سرولوژیکی لپتوسپیروز در گاوهای اهواز. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۱، دوره ۶۰، صفحات ۱۴-۷.

حسن‌پور علی، فرتاش‌وند محمد، عبداله‌پور غلامرضا، مقدم غلامعلی، نادعلیان محمدقلی و ستاری سعید (۱۳۸۶). تعیین میزان شیوع سرولوژیک آلودگی به لپتوسپیرا در گاوهای شیری اطراف تبریز. پژوهش و سازندگی، شماره ۷۴، صفحات ۷۷-۶۷.

زینالی علی، وندیوسفی جلیل، اهورایی پرویز، آذروندی علیرضا، بهکام علی و جعفری مسعود (۱۳۷۹). مطالعه اشکال بالینی، سرولوژیکی و پاتولوژیکی لپتوسپیروز در گاو، گوسفند و بز در کانون‌های آلوده شهرستان ارومیه. انتشارات شرکت جهاد تحقیقات و آموزش.

طالب‌خان‌گروسی مسعود، وندیوسفی جلیل، فامیل‌قدکچی هرمز، نوروزیان ایرج (۱۳۸۲). بررسی سرواپیدمیولوژی آلودگی لپتوسپیرایی در کارکنان و گله‌های گاو شیری دامپروری‌های اطراف مشهد. مجله دانشکده دامپزشکی تهران، دوره ۵۸ ، شماره ۱ صفحات ۹۴-۸۹.

عبداله‌پور غلامرضا (۱۳۸۷). مطالعه سروباکتریولوژیک لپتوسپیروزیس در چهارده استان کشور طی سال‌های ۱۳۷۸-۱۳۸۷. اولین کنگره کشوری لپتوسپیروز، ۱۹-۲۰ تیرماه ۱۳۸۷ رامسر صفحه ۴۳-۴۰.

هنرمند حمیدرضا، اشراقی سعید، خرمی‌زاده محمدرضا، منصور قناعی، فریبرز فلاح، محمد صادق و همکاران (۱۳۸۴). بررسی انتشار موارد مثبت لپتوسپیروز در استان گیلان به روش الایزا. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره ۱۴، شماره ۵۴، صفحات ۶۵-۵۹.

Abdollahpour G., Shafighi S.T. and Sattari Tabrizi S. (2009). Serodiagnosis of Leptospirosis in cattle in North of Iran, Gilan. International Journal of Veterinary Research, 3: 7-10.

Agunloye C.A. (2002). Leptospiral agglutinating antibodies in sheep and goats in south west Nigeria. Israel Journal of Veterinary Medicine, 57: 28-30.

Cousins D.V., Robertson G.M., Parkinson J. and Richards R.B. (1991). Use of the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) to detect the IgM and IgG antibody response to *Leptospira interrogans* Serovar *hardjo* in pregnant ewes. Zentralbl Bakteriology., 275: 333-42.

De Nardi Júnior G., Genovez M.E., Ribeiro M.G., Castro V. and Jorge A.M. (2010). An in vitro growth inhibition test for measuring the potency of *Leptospira spp. Sejroe* group vaccine in buffaloes. Biologicals, 38: 474-478.

Ebrahimi A., Nasr Z. and Kojouri Gh. (2004). Seroinvestigation of bovine leptospirosis in Shahrekord district. Iranian Journal of Veterinary Research. 2: 110-113 .

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

Levett, P.N. (2001). Leptospirosis. Journal of Clinical Microbiology. Rev. 14, 296–326.

Lilenbaum W., Varges R., Ristow P., Cortez A., Souza S.O., Richtzenhain L.J., et al. (2009). Identification of Leptospira spp. carriers among seroreactive goats and sheep by polymerase chain reaction. Research in Veterinary Science, 87: 16-19.

Meenak-shisundaram A. and Chellapandian M. (2008). Sero-prevalence of leptospirosis in small ruminants in Virudhunagar district of Tamil Nadu. Tamilnadu Journal of Veterinary and Animal Sciences, 6: 136-137.

Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W., et al. (2007). Veterinary Medicine – A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats. 10th ed. Philadelphia: pp:1094-1110.

Rajeev S., Berghaus R.D., Overton M.W., Pence M.E. and Baldwin C.A. (2010). Comparison of fluorescent antibody and microscopic agglutination testing for Leptospira in pregnant and nonpregnant cows. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 22: 51-54.

Schonman L. (Schoonman, L.)2, Swai ES (Swai, Emanuel Senyael) (2010). Herd- and animal-level risk factors for bovine leptospirosis in Tanga region of Tanzania. Brazilian Journal of Microbiology. 32: 298-300.

Tooloei M., Abdollapour G., Karimi H. and Hasanpor A. (2008). Prevalence of serum antibodies against six Leptospira serovars in sheep in Tabriz, Northwestern Iran. Journal of Animal and Veterinary Advances. 7; 450-455.

Vitale M., Vitale F., Di Marco V., Currò V., Vesco G. and Caracappa S. (2005). Polymerase chain reaction method for leptospirosis, analysis on samples from an autochthon swine population in Sicily, Italy. Revista Cubana de Medicina Tropical, 57: 25-27.

Zakeri S., Khorami N. and Ganji Z.F. (2010). *Leptospira wolffii*, a potential new pathogenic Leptospira species detected in human, sheep and dog. Infection Genetics and Evolution, 10: 273-277.

Seroepidemiological detection of antibodies against leptospira using microscopical agglutination test in Urmia cow and sheep

Ramin A.Gh.[1], Abdollahpour G.[2], Azizzadeh F.[3], Ghahramani P.[3], Masoudi A.[4] and Ramin S.[5]

Received: 10.01.2012 Accepted: 26.11.2012

Abstract

The study was designed to determine the level of incidence, titer and various serovars of leptospira in 203 cows and 166 sheep at Urmia abattoir in 2011. Blood samples were collected during the slaughter of animals and sera were separated to evaluate serological reaction to *leptospira spp* by microscopic agglutination test (MAT) using live antigens representing *leptospira interrogans* serogroups: *pomona*, *grippotyphosa*, *canicola*, *hardjo*, *icterrohaemoragia*, and *ballum*. Overall, 36% of cows and 19.3% of sheep including 33.8% of bulls, 40.5% of female cows, 18.3% of rams and 25% of ewes had positive reaction to at least one of the leptospira serovars. The most prevalent serovars in cows were *pomona* (22.7%), *grippotyphosa* (13.8%), and *hardjo* (8.4%), and in sheep were *grippotyphosa* (66.7%), *pomona* (26.2%) and *canicola* (7.1%). Other serovars were not detected in ruminants. The most prevalent serological titers for 1:100 and 1:200 in cows was 18.2% and 26.6% and for sheep, were 13.5% and 8%, respectively, and for 1:400 in sheep it was 2.3%. Cows with positive reaction to one, two and three serovars were 28.6%, 5.9%, and 1.5% and sheep to one and two serovars were 13.3% and 6%, respectively. Age comparison in seropositive cows and sheep showed significantly increased infection ($P<0.05$) from young to adult ruminants, while no differences were seen between males and females regarding gender. The main mixed serovars were between *grippotyphosa/pomona*, *grippotyphosa/canicola* and *canicola/pomona*. The gender comparison of the serovars' distribution revealed that the *pomona* and *grippotyphosa* were predominant among other leptospiral serovars in cows and sheep, respectively. In conclusion, the rate of leptospirosis in Urmia cows was about 2 fold in sheep. The most current serovars in cows and sheep were *pomona* and *grippotyphosa*, respectively. The majority of animals infected with one serovar, but polyserovars, is also possible. The highest titer (1:200) was observed in cows. There was no gender difference, but age was significant between ruminants. Finally, leptospirosis as a zoonotic disease must be seriously considered in Urmia cows rather than in sheep, and therefore, a serious effort must be considered to reduce the rate of disease and the risk of public health as well.

Key words: Leptospirosis, Serology, Cow, Sheep, MAT

1- Associate professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Iran
2- Associate professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran
3- Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Iran
4- DVM, Urmia Veterinary Organization, West Azarbayjan, Iran
5- Medical Student, Medical Sciences of Tabriz University, Tabriz, Iran