

مطالعه شیوع پادتن‌های *Leptospira interrogans* در گله‌های گاو مشکوک استان مازندران

- نصرآ... واحدی نوری، عضو هیات علمی مرکز منابع طبیعی و امور دام استان مازندران
- جلیل وندبوسفی، عضو هیات علمی موسسه تحقیقاتی واکسن و سرم‌سازی رازی
- نورا خرسند، اداره کل دامپزشکی استان مازندران

تاریخ دریافت: بهمن ماه ۱۳۸۰ تاریخ پذیرش: خرداد ماه ۱۳۸۱

مقدمه

از آنجایی که اکثر بیماری‌های دامی قابل انتقال به انسان می‌باشند و از طرفی این آلودگی در دام همواره باعث خسارات اقتصادی ناشی از تلف شدن دام یا صرف هزینه‌های هنگفت در امر درمان و یا سقط جنین می‌گردد، لذا شناسایی و اطلاع از وجود این عوامل در هر منطقه و آشنایی از درصد آلودگی و میزان شیوع نه تنها از لحاظ بهداشت عمومی، بلکه از نقطه نظر اقتصادی نیز می‌تواند حائز اهمیت باشد.

لیتوسپیروزیس یک بیماری باکتریایی مشترک بین انسان و دام می‌باشد که دارای گسترش جهانی است. این بیماری در تمام دامهایی که در کشاورزی مورد استفاده می‌باشند، بروز می‌کند و موجب سستی سمی، نفرت بینابینی، کم خونی همولیتیک، سقط جنین در بسیاری از گونه‌ها و ورم پستان در گاو و چشم درد دوره‌ای در اسب می‌گردد (۴). لیتوسپیروزیس یا تب آب، تب مرداب، برفان عمومی، تب موش، یا تب باتلاق ۳۰ سال قبل از کشف عامل سببی آن توصیف گردید. این میکروارگانیسم در سال ۱۹۱۴ به وسیله اینادا و همکاران در ژاپن کشف شد. جنس لیتوسپیرا یکی از پنج جنس متعلق به خانواده اسپیروکتاسه و راسته اسپیروکتالیس می‌باشد.

امروزه جنس لیتوسپیرا به دو گونه *L. interrogans* که تمامی سرووارته انگلی و بیماری‌ها را شامل می‌شود و *L. biflexa* که تمامی سرووارته ساپروفیت را در بر می‌گیرد، تقسیم‌بندی می‌گردد. باکتری انحناءدار، مارپیچ و به ابعاد ۶ تا ۲۰ میکرومتر در ۱/۲ تا ۰/۲ میکرومتر بوده و لذا از صافی‌هایی که عبور اکثر باکتری‌ها را مانع می‌گردند، عبور می‌کند. لیتوسپیرا گرم منفی و متحرک بوده که حرکت به وسیله محوری که از نظر وظیفه و ترکیب شیمیایی مشابه تاژک در نظر گرفته می‌شود، صورت می‌گیرد. این باکتری هوازی می‌باشد و شرایط میکروآنروفلیک را ترجیح می‌دهد. درجه حرارت مناسب برای رشد آن در شرایط آزمایشگاه ۲۸ درجه سانتی‌گراد است. لیتوسپیرا در مقابل خشکی بسیار حساس می‌باشد و بعد از مدت کوتاهی نابود می‌شود (۶).

چکیده

در یک بررسی سرولوژیک بین سالهای ۱۳۷۸-۱۳۷۶ تعداد ۱۰۰۰ نمونه سرم خون از نقاط مختلف و دامهای مشکوک به لیتوسپیروز در استان مازندران جمع‌آوری شد. نمونه‌ها به بخش میکروبی‌شناسی مؤسسه رازی ارسال گردید و تحت آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی قرار گرفته‌اند. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که پادتن ضد سه سروتیپ، کانیکولا، گریپوتیفوزا و ایکتروهموراژیه در بین گاوهای استان مازندران وجود دارد که بیشترین آن علیه ایکتروهموراژیه و کمترین آن مربوط به سروتیپ کانیکولا بود. این مطالعه سرمی میزان شیوع پادتن‌های *L. interrogans* که دارای عیار ۱/۱۱۶٪ نشان داد. بیشتر بوده‌اند را ۱۱/۶٪ نشان داد.

کلمات کلیدی:

لیتوسپیروزیس،

Leptospira interrogans،
آزمایش میکروآگلوتیناسیون،
گاو

✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 54 PP:13-15

Prevalence of leptospiral (interrogans) antibodies in suspect cattle flocks in Mazandaran province

By: N. Vahedinoori; Member of scientific board natural research resource and animal affairs center of Mazandaran province, Vandusefsi G.; Member of scientific board, Razi vaccine and serum research institute, Khorsand N.; Administration veterinary of Mazandaran province

Leptospirosis is probably the most important zoonoses and has been reported from more than half of the world's countries. Leptospirosis is caused by any of the individual serovars of *Leptospira interrogans*, of which there are over 180, grouped with 19 serogroups on the basis of shared antigens. Although many serovars are recognized internationally, only a limited number are endemic to any particular region. Subject of this study is serosurvey for *Leptospira interrogans* antibodies in suspect cattle flock in Mazandaran province. At this survey 1000 blood samples of suspect cattles were collected in different part of Mazandaran between 1376-1378. Serum of blood samples were titrated typing by microagglutination test (MAT). The result of lab. examination shows that, 116, (11.6%) samples had leptospira antibody titers of $\frac{1}{100}$ and above, against three serotypes of leptospira (Icterohaemorrhagia -Grippotyphosa-Canicula).

Keywords: Leptospirosis, *Leptospira interrogans*, Microscopic agglutination test, Cow.

شیوع لپتوسپیرا تا حدود زیادی مربوط به عوامل محیطی است و معمولاً در سطح وسیعی از یک منطقه منتشر می‌شود. در اکثر کشورها حامل اصلی باکتری حیوانات وحشی از قبیل جوندگان کوچک و جوجه تیغی و سایر پستانداران هستند. بقای لپتوسپیرا در طبیعت تا حدود زیادی بستگی به شرایط متعادل رطوبت، گرما، اسیدیته آب و خاک دارد. اگر چه خسارات اقتصادی ناشی از این بیماری در مقایسه با سایر بیماری‌های واگیر کم است، با این حال به واسطه قابلیت انتقال آن به انسان دارای اهمیت لازم در امر مبارزه و پیشگیری می‌باشد (۶).

بیماری از نظر کلینیکی و بررسی‌های سرولوژیک در

هموگلوبینوری و آنمی توسعه می‌یابد. سقط جنین یا تولد گوساله نارس به دنبال لپتوسپیروزیس اتفاق می‌افتد. در انسان این بیماری در اکثر موارد یا بدون علامت بوده و یا اینکه به شکلهای بسیار متغیر اتفاق می‌افتد که عبارتند از:

ضعف شدید عضلات، تب ضعیف تا شدید، پنومونی، برونشیت، آنمی، دردهای شدید سرگردن در برخی از موارد لپتوسپیروزیس، بدون توجه به شدت عفونت اولیه، عوارض ثانوی در چشمها به ظهور می‌رسد و میزان درصد آن بسیار متغیر بوده و دامنه‌ای از صفر تا ۱۰ درصد را شامل می‌شود (۴).

به علت تغییر پذیری بسیار در نشانیهای کلینیکی و

خون جدا و نهایتاً در بخش میکروشناسی مؤسسه رازی، نمونه‌های سرم پس از تعیین رقت در میکروپلیت‌ها و با به کارگیری ۲۰ سروگروپ شایع *interrogans* L. مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. بعد از یک شب در حرارت آزمایشگاه، قطره‌ای از هر رقت را روی لام شیشه‌ای قرار داده و با میکروسکوپ زمینه تاریک، آگلوتیناسیون بررسی و نتیجه قرائت گردید. آگلوتیناسیون در حد ۵٪ یا بیشتر به عنوان واکنش مثبت در نظر گرفته می‌شود.

نتایج

نتایج آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپ بر روی ۱۰۰۰ نمونه سرم از نقاط مشکوک به بیماری در استان مازندران علاوه بر تأیید وجود بیماری لپتوسپیروزیس در سطح استان، نشانگر وجود پادتن علیه سه سروگروپ *interrogans* L. (کانیکولا- گریپوتیفوزا- ایکترهوموراژیه) می‌باشد که نتایج عیار سنجی آنها در جدول ۶- و درصد عیار سنجی در جدول ۷- نشان داده شده است. نتایج سرولوژیک با عیار بالاتر از پلپ مؤید این موضوع است که اگر نمونه‌های مرضی در شرایط خاصی از بیماری تهیه و با رعایت اصول استاندارد، جهت کشت به آزمایشگاه ارسال گردند، با احتمال بیشتری در کشت باکتری مثبت خواهند بود. بدین وسیله سرووارته‌های مسئول را علاوه بر شناسایی از راه عیار پادتن، به طریق باکتری‌شناسی نیز جدا و تعیین سروگروپ نمود. همچنین نتایج بدست آمده با آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپ نشان داد که حدود ۱۱/۶٪ نمونه سرمها مثبت بوده و تیتتر سرمی برابر یا بیشتر از پلپ داشته‌اند (جدول ۱-). اگر چه تعیین قطعی سروگروپ بر مبنای جداسازی باکتری در محیط کشت می‌باشد با آزمایش میکروآگلوتیناسیون (M.A.T)، در بین سرووتیپهای شایع در استان مازندران، *L. icterohaemorrhagiae* در مقایسه با سایر سروتیپها از فراوانی بیشتری برخوردار بوده است. فراوانی سروتیپها بر مبنای آزمایش سرولوژی در جدول ۵- نشان داده شده است. از مجموع ۱۰۰۰ نمونه خون اخذ شده تعداد ۲۴۹ نمونه مربوط به دام نر و ۷۵۱ نمونه مربوط به دام ماده بوده است. نسبت درصد آلودگی بر اساس جنس دام در جدول شماره ۲- آورده شده است. همچنین در جدول شماره (۳) نسبت درصد آلودگی نمونه‌های اخذ شده را در فصول مختلف سالهای نمونه‌گیری نشان می‌دهد.

بحث

لپتوسپیروزیس به عنوان یکی از مهمترین بیماریهای مشترک مطرح می‌باشد که بوسیله سرووارته‌های مختلف *Leptospira interrogans* در سطح جهان گسترده شده است. با توجه به اینکه حدود ۱۶۰ گونه پستاندار اهلی و وحشی میزبان این باکتری را تشکیل می‌دهند بدین علت آن را پلی‌فازی می‌گویند (۲). تحقیقات مختلف در ایران نشان داده است که این بیماری در بین حیوانات مختلف وجود دارد. برای اولین بار رفیعی و همکاران در سالهای ۱۳۳۶ و ۱۳۳۸ و *grippotyphosa* L. را از گاو و گوسفند جدا و

جدول شماره ۱- تعداد موارد سرمی مثبت و منفی سرمهای ارسالی

تعداد کل نمونه سرم	تعداد موارد مثبت سرمی با تیتتر سرمی برابر یا بیشتر از (درصد)	تعداد موارد سرمی منفی (درصد)
۱۰۰۰	۱۱۶	۸۸۴
	(۱۱/۶)	(۸۸/۴)

جدول شماره ۲- آلودگی گاوها به لپتوسپیرا بر حسب جنس در استان مازندران سالهای ۱۳۷۶ تا ۱۳۷۸

جنس	تعداد آزمایش شده	موارد مثبت	نسبت درصد آلودگی
نر	۲۴۹	۲۴	۹/۶
ماده	۷۵۱	۹۲	۱۲/۲

جدول شماره ۳- آلودگی گاوها به لپتوسپیرا در فصول مختلف سال در استان مازندران سالهای ۱۳۷۶ تا ۱۳۷۸

فصل	موارد آزمایش شده	موارد مثبت	نسبت درصد آلودگی
بهار	۵۳۷	۸۳	۱۵/۵
تابستان	۳۰۵	۱۰	۳/۳
پاییز	۷۸	۸	۱۰/۳
زمستان	۸۰	۱۵	۱۸/۸
مجموع	۱۰۰۰	۱۱۶	۱۱/۶

فقدان جراحات اختصاصی در اکثر موارد لپتوسپیروزیس انسان و دام، جداسازی میکروارگانیزم و با آزمایشات سرولوژی نیاز مطلق در تشخیص قطعی بیماری محسوب می‌گردد. روشهایی که برای شناسایی لپتوسپیرا وجود دارند عبارتند از:

- ۱- روش میکروشناسی که جداسازی ارگانیزم از محیط کشت مخصوص می‌باشد.
- ۲- روشهای سرولوژی که عبارتند از:
 - الف- آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی
 - ب- آزمایش آگلوتیناسیون ماکروسکوپی
 - ج- آزمایش همولیتیک و هماگلوتیناسیون
 - د- آزمایش ثبوت عناصر مکمل
 - ه- آزمایش فلورسانت آنتی بادی

مواد و روشها

این مطالعه بر روی ۱۰۰۰ رأس گاو در سنین مختلف و در طول سالهای ۱۳۷۶ تا ۱۳۷۸ در سطح استان مازندران انجام شد. بعد از تعیین آمار جمعیت گاوهای استان مازندران و میزان توزیع آنها در شهرستانهای مختلف، تعداد نمونه‌های مورد نیاز برای بررسی در هر شهرستان بدست آمده است. از هر گاو مشکوک ۵الی ۱۰ سی سی خون اخذ شد و در آزمایشگاه مرکز تحقیقات بیماریها، سرم

انسان و حیوانات، تقریباً در هر کشوری به ثبت رسیده است. انتشار لپتوسپیروزیس مستقیماً به حضور محلی حیوانات حامل و شرایط محیطی که بقای لپتوسپیرا را در خارج از بدن میزبانها امکان پذیر می‌سازد، وابسته است. از آنجایی که لپتوسپیرا به شرایط خشکی بسیار حساس می‌باشند، خاکهای مرطوب ناشی از بارندگیهای شدید یا آبهای سطحی، شرایط لازم بقای لپتوسپیرا را در خارج از بدن میزبانهایشان تشکیل می‌دهند. مناطق با بارانهای زیاد و یا نواحی با سطح بالای آبهای سطحی، به سادگی بقای لپتوسپیرا را در خارج از بدن میزبان را تأمین نموده و بنابراین اکثر نواحی با بارانهای موسمی، مناطق وسیع آندمیک طبیعی خطرناکی را برای ساکنین، چه بومی و چه آنهایی که به تازگی وارد شده‌اند، بوجود می‌آورند.

علایم لپتوسپیروزیس در گاوهای شیری و گوشتی کاملاً متغیر و دامنه‌ای از عدم وجود کلی نشانه‌ها با تظاهرات کلینیکی غیر معمول و تا بیماری ایکترهوموراژیک شدید می‌باشد (۶). اکثر موارد لپتوسپیروزیس، هنگامی که نشانیهای بیماری تظاهر می‌یابند، با افزایش درجه حرارت بدن بین ۳۹/۵ الی ۴۰ درجه سانتی‌گراد شروع شده و ممکن است از ۱ تا ۷ روز ادامه یابد. معمولاً تب با بی‌اشتهایی، ظاهری افسرده و کاهش تولید شیر همراه می‌باشد. در موارد شدیدتر یرقان همولیتیک با آثار تدریجی

نمودن سرگروپهای شایع، استفاده از واکسن می‌تواند در کنترل بیماری مؤثر واقع شود و از خطرات و زیانهای بهداشتی و اقتصادی آن جلوگیری به عمل آورد که هدف اصلی این بررسی بوده است.

منابع مورد استفاده

۱- جعفری، محمود، آرزوندی، علیرضا، وندیوسفی، جلیل، مرادی بیدهندی، سهیلا و کرامت، علیرضا، ۱۳۷۸. بررسی موارد بالینی مشکوک به لپتوسپیروز و شناسایی سویه‌های درگیر لپتوسپیرا در گاو در شهرستان ارومیه. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی. انتشارات شرکت جهاد تحقیقات و آموزش.

۲- وندیوسفی، جلیل، اهورایی، پرویز، مرادی بیدهندی، سهیلا، عاملی، مسعود و اکبرزاده، جهانگیر، ۱۳۷۳-۱۳۷۲. بررسی لپتوسپیروز گاو و گوسفند و شناسایی کانونهای آلوده به بیماری در مناطق مشکوک ایران. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی. انتشارات شرکت جهاد تحقیقات و آموزش.

۳- وندیوسفی، جلیل، مرادی بیدهندی، سهیلا، اعرابی، ایرج، عاملی، مسعود و صفویه، صدیقه، ۱۳۷۷-۱۳۷۵. استاندارد کردن واکسن سه تایی لپتوسپیرا در گاو و گوسفند. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی. انتشارات جهاد تحقیقات و آموزش.

4- Blood, D.C., Henderson. J.A. and Radostits, O.M. 1989. Veterinary and medicine, Bailler, Tindall, London.

5- Hoshmand Rad, p. Maghami, GH. 1976. Leptospirosis in small mammel of Iran Arch.inst. Razi. 28:39-44.

6- James H. Steele. 1990. CRC Handbook series in zoonoses, voliume I, CRC perss.

7- Rafyi, A. and Ch, Maghami. 1957. Sur la frequence de la leptospiros en Iran. BULL, Sco. pathol. Exot. 50:657-659.

8- Rafyi, A. and Ch, Maghami. 1959. Sur La frequence de Leptospirose en Iran. Isolement de Leptospira ches Lhomme et ches les bovines. Bull. Sco. Path. Exot. 52 592-569.

9- Rafyi, A and Gh. Maghami. 1961. Sur la frequence de la leprospirose en Iran. III. Isolement de *Leptospira grippotyphosa* (L.bovis) chez les bovines Bull. Sco. path. Exot. 54: 179-181.

(۷۵٪) دارای عیار مثبت پلپ و بالاتر نسبت به سرگروپهای مختلف را نشان دادند (۳). اگر چه تشخیص قطعی سویه‌ها توسط آزمایشهای میکروبیولوژیکی صورت می‌گیرد، نتایج تحقیقات ما که بر مبنای مطالعات سرولوژی استوار بود بیانگر پادتن ضد سه سروتیپ کانیکولا، گریپوتیفوزا و ایکتروهموراژی به در بین گاوهای استان مازندران می‌باشد که وجود هر سه سروتیپ مذکور، در تحقیقات انجام شده توسط وندیوسفی و جعفری در سال ۱۳۷۳ نشان داده شده است.

با مطالعات اپیدمیولوژی، سرولوژی و باکتریولوژی و با مشخص شدن نقاط مشکوک و آلوده به لپتوسپیروزیس و همچنین با مشخص

گزارش نمودند (۹،۸،۷). در سال ۱۳۵۵ هوشمند و همکاران سروتیپ هارگو را از ادار چونندگان نواحی مختلف جدا نمودند (۵). در سال ۱۳۶۸ وندیوسفی در یک مطالعه سرولوژی و باکتریولوژی سه سرگروپ گریپوتیفوزا، کانیکولا، سرگو هارگو را شناسایی نمود (۳). در سال ۱۳۷۳ جعفری و همکاران در یک آزمایش سرولوژی و کشت اسپیروکت وجود بیماری لپتوسپیروزیس را در گاوهای حومه ارومیه تأیید کرده‌اند. بطوریکه در تایپینگ نمونه‌های سرمی به روش M.A.T شش نوع سروتیپ اسپیروکت لپتوسپیرا شناسایی شدند (۱). همزمان با آن وندیوسفی با همکاران در بررسی سرولوژی روی ۱۸۰۸ نمونه سرم ارسالی از نقاط مختلف کشور، تعداد ۱۳۶۵ نمونه سرم

جدول شماره ۴- آلودگی گاوها به لپتوسپیرا بر حسب سن در استان مازندران

سن (سال)	تعداد آزمایش شده	موارد مثبت	نسبت درصد آلودگی
۰-۱	۳۸۰	۳۳	۸/۷
۱-۲	۹۳	۱۳	۱۴
۲-۳	۱۲۸	۱۸	۱۴/۱
۳-۴	۱۱۳	۱۶	۱۴/۲
۴-۵	۱۱۲	۱۴	۱۲/۵
۵-۶	۸۷	۱۲	۱۳/۸
۶-۷	۴۴	۷	۱۵/۹
۷-۸	۲۳	۱	۴/۳
۸-۹	۵	۱	۲۰
۹-۱۰	۱۱	۱	۹/۱
۱۰-۱۱	۰	۰	۰
۱۱-۱۲	۱	۰	۰
۱۲-۱۳	۰	۰	۰
۱۳-۱۴	۰	۰	۰
۱۴-۱۵	۳	۰	۰
مجموع	۱۰۰۰	۱۱۶	۱۱/۶

جدول ۵ - میزان آلودگی گاوها به ترتیب سرو واریته‌های مختلف لپتوسپیرا

نوع سرو واریته	تعداد	نسبت درصد
کانیکولا	۵۴	۲۹/۳
ایکتروهموراژیکال	۷۰	۳۸
گریپوتیفوزا	۶۰	۳۲/۶

جدول شماره ۶- نتایج عیار سنجی سرمهای ارسالی از نقاط مختلف استان مازندران با استفاده از روش MAT

Scrotype	۱/۱۰۰	۱/۴۰۰	۱/۴۰۰	۱/۸۰۰
Canicola	۲۸	۱۷	۸	۱
Grippotyphosa	۳۰	۲۰	۷	۳
Icterohacmorragic	۲۷	۲۰	۹	۴
جمل کل	۹۵	۵۷	۲۴	۸

جدول شماره ۷- درصد عیارسنجی ۱۰۰۰ سرم خون با استفاده از روش MAT

درصد	مجموع	عیار سرمها
۹/۵	۹۵	۱/۱۰۰
۵/۷	۵۷	۱/۴۰۰
۲/۴	۲۴	۱/۴۰۰
۰/۸	۸	۱/۸۰۰