

# یافته‌های سرولوژیکی لپتوسپیروز در گوسفندان شهرستان ارومیه و حومه

- عسگر زینالی، گروه علوم بالینی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
- جلیل وند یوسفی، عضو هیئت علمی مؤسسه تحقیقاتی رازی
- پرویز اهورائی، عضو هیئت علمی مؤسسه تحقیقاتی رازی
- علیرضا آذروندی، عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام آذربایجان غربی
- علی بهگام، کارشناس دامپزشکی شبکه دامپزشکی آذربایجان غربی
- محمود جعفری، کارشناس دامپزشکی مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام آذربایجان غربی

✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۳۵، تابستان ۱۳۷۶

## چکیده

لپتوسپیروز یکی از مهمترین بیماری‌های مشترک می‌باشد که به علت داشتن میزبانان مختلف حیوانات اهلی و وحشی، انتشار جغرافیایی وسیعی در دنیا دارد. عامل بیماری می‌تواند به طور مستقیم و غیر مستقیم از حیوانات اهلی و وحشی به انسان انتقال یابد و دو مرحله سپتی سمیک و ایمون در انسان و حیوان ایجاد می‌کند. نتایج آزمایشات وجود عامل بیماری را در بین جمعیت گوسفندان منطقه نشان می‌دهد. در این مطالعه از تعداد ۳۸۵ نمونه سرمی گوسفند از نواحی مختلف ارومیه حدود ۳۴/۸۱ درصد نمونه‌ها مثبت بوده و تیتسر سرمی برابر یا بیشتر از ۱/۱۰۴ داشتند. نتایج آزمایشات عیارسنجی و سروتاپینگ وجود ۵ سروتاپ *Sejroe hardjo*، *Grippotyphosa*، *Pomona* و *Canicola hondutrech* را در بین گوسفندان کانون‌های آلوده منطقه ارومیه نشان می‌دهد. غالب‌ترین سروتاپ شناخته شده در بین گوسفندان *Canicola hondutrech* بوده (۱۳/۲۵ درصد) و کمترین میزان آلودگی مربوط به سروتاپ *Grippotyphosa* می‌باشد (۵/۲ درصد). تعداد مبتلایان گوسفندی با بیش از یک سرورگروپ شناخته شده حدود ۱/۰۴ درصد بوده است.

## نتایج

در این مطالعه که تعداد ۳۸۵ نمونه سرم گوسفند به کمک آگلوتیناسیون میکروسکوپی انجام شد. نتایج به دست آمده با آزمایش MAT نشان داد که حدود ۳۴/۸۱ درصد نمونه سرم‌ها مثبت بوده و تیتسر سرمی برابر یا بیشتر از ۱/۱۰۴ داشتند (جدول ۱). همچنین آزمایشات عیارسنجی و سروتاپینگ نشان داد که تعداد پنج سروتاپ *Sejroe hardjo*، *Grippotyphosa* و *Pomona*، *Canicola hondutrech*، و در بین گوسفندان کانون‌های آلوده منطقه ارومیه پراکنده هستند (جدول شماره ۲). نتایج عیارسنجی در جدول شماره ۲ نشان می‌دهد که وجود عیار سرمی ۱/۰۴ به میزان ۱/۰۴ درصد، عیار ۱/۱۰۴ به میزان ۷/۵۴ درصد، عیار ۱/۱۰۸ به میزان ۴/۴۲ درصد، عیار ۱/۱۰۸ به میزان ۹/۱ درصد و عیار ۱/۱۰۸ به میزان ۱۳/۷۷ درصد می‌باشد. نتایج جدول شماره ۳ نشان می‌دهد که حدود ۱/۰۴ درصد نمونه‌های سرمی به دو نوع سروتاپ آلوده بوده‌اند.

## بحث

لپتوسپیروز یک بیماری مشترک مهم است که بوسیله سروارهای مختلف *Leptospira interrogans* در سطح جهان گسترده شده است (۳، ۶ و ۷). تحقیقات نشان داده است که این بیماری در بین حیوانات در ایران وجود دارد (۱، ۲ و ۳). سروتاپ *Leptospira pomona* اصلی‌ترین لپتوسپیروا جدا شده از گوسفندان در دنیا گزارش شده است (۴) اما *L. hardjo*

## مواد و روش کار

جهت مطالعه سروراپیدمیولوژیکی لپتوسپیروز در گوسفندان ناحیه ارومیه از گله‌های مختلف گوسفند در منطقه ارومیه تعداد ۳۸۵ نمونه خون توسط لوله ونوجکت از ورید وداج حیوانات اخذ شد. تعداد نمونه را با استفاده از فرمول نمونه‌برداری  $n = \frac{N}{NZ^2 + 1}$  (تعداد کل نمونه)،  $N =$  تعداد کل جمعیت (Z= ضریب خطا)، با ضریب خطای ۵٪ و ضریب اطمینان ۹۵ درصد انتخاب کردیم (۱۱). سپس سرم نمونه‌ها با سانتریفوژ کردن خون جدا گردید و تیتسر سرمی و سروتاپینگ نمونه‌های سرمی به کمک روش MAT بر طبق توصیه (وند یوسفی و همکاران ۱۳۷۲ و ۱۹۹۱، Collares - Pereira) بررسی شدند (۳ و ۸).

در روش MAT از سروتاپ‌های ۲۰ سرورگروپ لپتوسپیروا استفاده شد. در این آزمایش از کشت‌های ۴-۱۴ روزه باکتری در حرارت ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد در محیط مایع و با تراکم  $10^8 \times 2-1$  لپتوسپیروا در میلی‌لیتر استفاده می‌گردد. ابتدا از سرم رقت ۱/۱۰۸ تهیه و سپس در یک لوله آزمایش استریل هم حجم سرم، پادگن رقیق شده به آن افزوده می‌شود. سپس این لوله به مدت ۱/۵-۴ ساعت در آنکوباتور ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرد. بعد از طی زمان آنکوباسیون با تهیه لام *Wet mount* و مشاهده بوسیله میکروسکوپ زمینه تاریک میزان درصد تحرک لپتوسپیروا بررسی می‌شود. در صورتی که بیش از ۵۰ درصد از لپتوسپیرواها بی حرکت یا آگلوتینه شده باشند از نمونه رقت‌های بالاتر تهیه و آزمایش تکرار می‌شود تا عیار نهائی به دست آید (۳).

## مقدمه

لپتوسپیروز یکی از مهمترین بیماری‌های مشترک بوده که به علت داشتن میزبانان مختلف حیوانات اهلی و وحشی، انتشار جغرافیایی وسیعی در دنیا دارد (۳، ۶، ۱۰). با توجه به اینکه ۱۶۰ گونه پستاندار وحشی و اهلی میزبانان این باکتری را تشکیل می‌دهند، بدین علت این باکتری را پلی‌فاز گویند (۳، ۱۰). محققین در برخی نقاط لپتوسپیروز را دومین بیماری مهم منطقه از دام به انسان گزارش کرده‌اند (۵). از نقاط مختلف ایران طی بررسی‌های مختلف (۱، ۲ و ۳) لپتوسپیروز گزارش شده است. همچنین جداسازی لپتوسپیروا از نمونه‌های مرضی، نشانگر پراکندگی سروواریه‌های مختلف در ایران می‌باشد (۲).

عامل بیماری می‌تواند به طور مستقیم و غیر مستقیم از حیوانات اهلی و وحشی به انسان انتقال یابد و دو تابلوی بالینی غیر ایکتریک (Septicemic stage) یا ایکتریک (Immune Stage یا Later) در انسان و حیوان ایجاد کند (۲، ۶ و ۱۰)، که شناسائی آنها از نظر اقتصادی و بهداشت عمومی حائز اهمیت می‌باشد (۳). به همین جهت با توجه به گزارشات قبلی بیماری از گاو (۱) و گاو میش (۲) در ارومیه مطالعه و شناسائی کامل کانون‌های آلوده به بیماری در گوسفندان منطقه ضروری به نظر می‌رسید. در این مطالعه که با استفاده از آزمایش سرولوژیکی تست آگلوتیناسیون میکروسکوپی (MAT) نمونه‌های سرمی مورد آزمایش قرار گرفته است، نتایج آزمایشات وجود عامل بیماری را در بین جمعیت گوسفندان منطقه نشان می‌دهد.

5- Andre-fontaire, G. and Ganiere, J. P. 1990: New topics on leptospirosis, Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis., 13 (3), PP.: 163-8.

6- Blood, D. C. and Radostits, O. M. 1989: Veterinary medicine, A textook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses, 7th ed., Bailliere Tindall Company, PP.: 758-68.

7- Bruner, D. W. and Gillespie, J. H. 1973: Hagan's Infectious diseases of domestic animals, 6th edition, Comstock publishing associates, PP.: 494-570.

8- Collares - pereira, M. 1991: Bovine Leptospirosis in cattle in Portugal: bacteriology and serology, Jone, 8, PP:549-570.

9- Gerritsen, M. J., Koopmans, M. J., Poterse, D., Olyhock, T. 1994: Sheep as maintenance host for *Leptospira interrogans* serovar hardjo subtype hardjo bovis, American Journal of veterinary research, Department of bacteriology, Central Vet. Institute, 55, 9, PP. 1232-1237.

10- Smith, B. P. 1990: Large animal internal medicine, Disease of horses, cattel, sheep and goat, the C. V. Mosby Company, PP. 1410-1411.

11- Thrusfield, M. V. 1986: Veterinary epidemiology, First published, Butterworth & Co. (publishers) Ltd., PP.: 141-165.

۲). تعداد گوسفندان دارای تیتتر سرمی مثبت با بیش از یک سروگروپ، در بین جمعیت گوسفندی منطقه ارومیه کم (۱/۰۴ درصد) بوده، اما در تمام موارد یکی از سروگروپ‌ها را Pomona تشکیل داده است (جدول شماره ۳).

این مطالعه اطلاعات بیشتری را در خصوص وجود عفونت لیتوسپیروزی در بین گوسفندان منطقه ارومیه و حومه برای ما فراهم می‌آورد و نشان می‌دهد که سروواریته کانیکولا سروواریته لیتوسپیروزی غالب آلوده کنند گوسفندان در منطقه می‌باشد.

### منابع مورد استفاده

۱- جعفری، محمود، وندیوسفی، جلیل و آذرنودی، علیرضا ۱۳۷۳. طرح بررسی مواد بالینی مشکوک به لیتوسپیروز و شناسایی سویه‌های درگیر لیتوسپیروز در گاو در شهرستان ارومیه، مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام آذربایجان غربی، ص ۸۱-۷۵.

۲- زینالی، عسگر و عصری، سیامک ۱۳۷۵. مطالعه شیوع سرواپیدمیولوژیکی عفونت لیتوسپیروزی در گاو میش در ارومیه و حومه، سومین کنگره ملی بیماری‌های قابل انتقال بین انسان و حیوان، مشهد، ۴ الی ۶ اردیبهشت، ص ۸۶.

۳- وندیوسفی، جلیل، مرادی بیده‌ندی، سهیلا و اهورائی، پرویز ۱۳۷۳. یافته‌های تازه پیرامون لیتوسپیروز در مؤسسه رازی، مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۲۵، ص ۷۲-۷۵.

4- Ahl, A. S., Miller, D. A. and Sartlett, P. C. 1992. Leptospira serology in small ruminants on st. Croix, U.S virgin Islands: Annals of the New york, 653, PP: 168-177.

*Leptospira bratislava* (۱۰) نیز از گوسفندان جدا شده، و موارد سرمی مثبت به *Li. automnalis*، *Li. hardjo*، *Li. bataviae*، *Li. ballum* و *Li. icterohaemorrhagiae* را همکاران در سال ۱۹۹۲ در ایسلند گزارش کرده‌اند (۴).

تحقیقات ما نشان می‌دهد که پنج سروتایپ *Sejroe hardjo*، *Canicola hondutrech*، *Grippotyphosa*، *Icterohaemorrhagiae*، *Pomona* و *copenhagenie* در بین گوسفندان منطقه ارومیه از استان آذربایجان غربی وجود دارد. غالبترین سروتایپ شناخته شده *Canicola hondutrech* بوده و کمترین میزان آلودگی مربوط به سروتایپ *Grippotyphosa* می‌باشد (جدول شماره ۲). شناسایی سروتایپ‌های *Grippotyphosa*، *Pomona* و *Icterohaemorrhagiae* در گاو و گاو میش (۱ و ۲) و *Sejroe hardjo*، *Canicola hondutrech* در گاوهای (۱) منطقه از یک طرف، و نگهداری با هم گوسفند و گاو و گاو میش در اکثر مناطق ارومیه از طرف دیگر نشان می‌دهد که این حیوانات احتمالاً در نگهداری و انتقال عامل بیماری به گوسفندان ناحیه می‌توانند با اهمیت باشند.

گوسفندان به عنوان میزبان دائم برای سروواریته هارجو به حساب می‌آیند (۷) نتایج تحقیقات ما نشان داده است که ۴/۶۸ درصد موارد سرمی مثبت، سرو واریته هارجو بوده که تعداد زیادی از آنها تیتتر  $10^4$  در بین حیوانات به ظاهر سالم داشته‌اند و این احتمالاً نظر محققین اخیر را تأیید می‌نماید (جدول شماره ۲).

از مجموعه ۳۸۵ سرم گوسفندی آزمایش شده بوسیله آزمایش MAT با استفاده از ۲۰ یادگن زنده لیتوسپیروز حدود ۱۳۴ گوسفند (۳۴/۸۲ درصد) تیتتر لیتوسپیروزی مثبت (برابر یا بیشتر از  $10^3$ ) داشتند (جدول شماره ۱ و ۲). سرو واریته *Canicola hondutrech* بیشترین شیوع پادتن‌های لیتوسپیروزی (۱۳/۲۵ درصد) را تشکیل می‌دهند، در حالی که پائین‌ترین میزان سرم‌های مثبت (۰/۵۲) از نظر لیتوسپیروزی اختصاص به سروواریته *Grippotyphosa* در منطقه ارومیه دارد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲- نتایج عیارسنجی تیتتر سرم‌های به کمک روش تست آگلوتیناسیون میکروسکپیک (MAT) را نشان می‌دهد.

سروتایپ	تیتتر					جمع به درصد
	$10^1$ درصد	$10^2$ درصد	$10^3$ درصد	$10^4$ درصد	$10^5$ درصد	
Gripootyphosa	۱ (۰/۲۶)	۱ (۰/۲۶)	-	-	-	۰/۵۲
Sejroe hardjo	۱۶ (۴/۱۶)	۲ (۰/۵۲)	-	-	-	۴/۶۸
Icterohaemorrhagiae	۲۲	۸	-	-	۱ (۰/۲۶)	۸/۰۵
Copenhagieni	۷ (۵/۷۱)	۱۲ (۲/۰۸)	۷ (۱/۸۲)	۹ (۲/۳۴)	۱ (۰/۲۶)	۹/۳۵
Pomona	۷ (۱/۸۲)	۱۲ (۳/۱۲)	۱۰ (۲/۶)	۲۰ (۵/۲)	۲ (۰/۵۲)	۱۳/۲۵
Canicola hondutrech IV	۷ (۱/۸۲)	۱۲ (۳/۱۲)	۱۰ (۲/۶)	۲۰ (۵/۲)	۲ (۰/۵۲)	۱۳/۲۵
جمع کل	۵۳ (۱۳/۷۷)	۳۵ (۹/۱)	۱۷ (۴/۴۲)	۲۹ (۷/۵۴)	۴ (۱/۰۴)	۳۵/۸۵

جدول شماره ۱- تیتترهای مثبت به سروواریته‌های لیتوسپیروزی را نشان می‌دهد.

تعداد کل نمونه سرم	تعداد موارد مثبت سرمی بالاتر سرمی برابر یا بیشتر از $10^3$ (درصد)	تعداد موارد سرمی منفی (درصد)
۳۸۵	۱۳۴ (۳۴/۸۱)	۲۵۱ (۶۵/۱۹)

جدول شماره ۳- وضعیت تعداد سرم‌هایی که ۲ نوع سروگروپ داشته‌اند را نشان می‌دهد.

سروگروپ	تعداد	درصد
Pomona + Canicola	۳	۰/۷۸
Pomona + Icterohaemorrhagiae	۱	۰/۲۶
جمع کل	۴	۱/۰۴