بررسی سرواپیدمیولوژیک لپتوسپیروز در گاوهای استان گلستان

• **پرستو پورغفورلنگرودی***: موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: شهریور ١٣٩٨ تاریخ پذیرش: آذر ١٣٩٨

چکیده

لپتوسپیروز یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مشترک بین انسان و دام در سراسر دنیا محسوب می‌شود. با توجه به گزارش فوت یک کشاورز درگرگان به‌علت لپتوسپیروز و تلفات غیرعادی جمعیت موش‌های جنگلی در علی‌آباد کتول، بررسی لپتوسپیروز در استان ضروری به‌نظر می‌رسید. بنابراین، در مطالعه حاضر شیوع سرمی نمونه‌های Leptospira Interrogans در بین گاوهای استان گلستان بررسی شد. نمونه خون از ٥٠٥ راس گاو در سنین مختلف در سطح استان گلستان اخذ گردید و به‌روش میکروآگلوتیناسیون مورد بررسی سرولوژی قرار گرفت. میزان آلودگی گاوها به باکتری لپتوسپیرا در سنین، جنس و فصول مختلف با روش کای‌مربع و با استفاده از نرم‌افزار SPSS بررسی شد. کل نمونه‌ها، ١٣٧ نمونه (٢٧/١٢) دارای پاسخ سرولوژی مثبت بود که ١٠٨ (٧٨/٨٤ درصد)، ٢٥ (١٨/٢٥ درصد) و ٤ نمونه (٢/٩١ درصد) به‌ترتیب فقط با یک، دو و سه سروار واکنش مثبت نشان دادند. در نمونه‌های دارای پاسخ سرولوژی مثبت، ٣٢/٧٥ درصد با سروار ایکتروهموراژیه، ٢٦/٣١ درصد با سروار سرجروهاردجو، ٢٢/٢٢ درصد با سروار اتومنالیس، ٩/١٥ درصد با سروار گریپوتیفوزا، ٥/٢٧ درصد با سروار پومونا و ٣/٥٠ درصد با سروار کانیکولا واکنش مثبت نشان دادند. بیش‌ترین فراوانی (٣٠/٩٩ درصد) در تیتراسیون ١:٨٠٠ مشاهده گردید. بیش‌ترین فراوانی در سن ٣-٢ سالگی (٥٢/٦٣ درصد)، جنس ماده (٢٧/٤٨درصد) و در فصل تابستان (٣٧/٩٣درصد) مشاهده گردید. اما از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>٠/٠٥). عفونت لپتوسپیرایی در سطح استان به‌طور فعال وجود دارد. هم‌چنین مقایسه سروتیپ غالب حاکی از تغییر نوع عامل بیماری‌زا از گریپوتوفوزا در سال ٢٠٠٧ به ایکتروهمراژیه در زمان تحقیق حاضر بود.

کلمات کلیدی: لپتوسپیروز، آگلوتیناسیون، گاو، گلستان، ایکتروهموراژیه

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: poorghafoor@yahoo.com

مقدمه

لپتوسپیروز یک بیماری مشترک بین انسان و دام و شایع در سراسر دنیا است که به‌وسیله گونه‌های بیماری‌زای لپتوسپیرا ایجاد می‌شود. این اجرام در باتلاق‌ها، فاضلاب‌ها و زمین‌های مرطوب زندگی می کنند (Agesilas و همکاران، ۲۰۰۵)(Brenner و همکاران،۱۹۹۹). به‌طورکلی انتشار بیماری به عواملی ازجمله آب و هوا، تراکم جمعیت و میزان تماس بین میزبان نگه‌دارنده و میزبان تصادفی بستگی دارد (طباطبایی و فیروزی، ۱۳۸۰). مهم‌ترین میزبان نگه‌دارنده بیماری در مناطق روستایی و شهری جوندگان می‌باشندو اگر در محل نگه‌داری دام جوندگان آلوده حضور یابند از طریق ادرارشان می‌توانند آلودگی را در محیط پخش کنند (Jori و همکاران، ۲۰۰۹). هم‌چنین معمول‌ترین راه انتقال این بیماری آب است و موارد جدید ابتلا اغلب در فصول بارندگی رخ می‌دهد، بنابراین می‌توان گفت که شیوع آن در مناطق معتدل در فصل تابستان و پاییز به اوج می‌رسد و در مناطق گرم در فصول بارانی بیش‌ترین رخداد بیماری وجود دارد (Herrmann و Brioudes، ۲۰۰۵؛ Tangkanakul و Smits، ۲۰۰۵). البته شایان ذکر است که واگیری بیش‌تر بیماری در فصل زمستان و در مکان‌هایی که دام‌ها در یک منطقه محصور و متراکم هستند دیده می‌شود (طباطبایی و فیروزی، ۱۳۸۰). هم‌چنین لپتوسپیروز یک بیماری شغلی نیز محسوب می‌شود و در شالیکاران خطر ابتلا به این بیماری بیش‌تر است (Tangkanakulو همکاران، ۲۰۰۰). بیماری لپتوسپیروز برای بقا و حفظ حدت میکروارگانیسم‌ها در خارج از بدن میزبان به حداقل دوره زمانی نیاز داشته، تا امکان آلودگی جمعیت حساس را به‌وجود آورد. لپتوسپیراها نسبت به شرایط خشکی بسیار حساس بوده و خاک‌های مرطوب ناشی از بارندگی‌های شدید یا آب‌های زیرسطحی شرط لازم بقای لپتوسپیراهادر خارج از بدن میزبان را تشکیل می‌دهند(عبداله‌پور، ۱۳۶۶). بارندگی‌های سنگین و جاری شدن سیل خطر وقوع بیماری لپتوسپیروز را افزایش می‌دهد (Lau و همکاران، ۲۰۱۰)، به‌طوری‌که در مناطق سیل خیز، لپتوسپیروز به‌عنوان یکی از دلایل سقط، مرگ نوزادان و به‌دنیا آمدن نوزاد مرده یا ضعیف در اسب‌ها شناسایی شده است (Radostits و همکاران، ۲۰۰۷). هم‌چنین در نواحی روستایی همه‌گیری‌های وسیع در ارتباط با بارندگی‌های سنگین و سیل تقریباً به‌طور منظم اتفاق می‌افتد (Barkin و همکاران، ۱۹۷۴). در همین راستا در مطالعه‌ای نمونه‌های سرمی ۳۰۰۰ راس گاو و گوسفند و هم‌چنین ۵ نفر شتر با آزمایش میکروآگلوتیناسیون (MAT) مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد ۳۱ درصد آلودگی گاوها و ۱۷٪ آلودگی گوسفندان به سروتیپ‌های گریپوتیفوزا، پومونا و ایکوهموراژیه بود (Yousefivand و همکاران، ۱۹۹۵). در مطالعه دیگر گاوهای ۲۳ دامداری اطراف تهران را با آزمایشMAT مورد بررسی قرار داد. نتایج این بررسی گویای آن بود که ۲۴/۶ درصد گاوهای ماده دارای تیتر سرمی مثبت علیه یکی از سروتیپ‌های لپتوسپیرا بودند که ۲۱/۶ درصد آن ناشی از سروتیپ بورینکانا بود (مقامی و همکاران، ۱۳۵۹). مطالعه‌ای در نقاط مختلف ایران انجام دادند که پراکندگی وسیع سرووواریته‌های مختلف باکتری لپتوسپروا را در ایران نشان می‌داد و برای اولین‌بار وجود پادتن‌های ضدسجره، شیفون و کپنهاگنی در ایران گزارش گردید (طباطبایی و فیروزی، ۱۳۸۰). ذکر این نکته ضروری است که تاکنون سرووارهای مختلفی از باکتری لپتوسپروا شناخته شده است، اما معمولاً عفونت توسط سرووواری ایجاد می‌شود که بومی همان منطقه می‌باشد (Alanso-Andicoberry و همکاران، ۲۰۰۱). مطابق مطالعات مختلف بیش‌ترین سرووارهایی که در دام‌های ایران شیوع دارند شامل هارجو، پومونا، گریپوتیفوزا، کانیکولا و ایکتروهموراژیه می‌باشد (Haji Hajikolaei و همکاران، ۲۰۰۵). مهم‌ترین منبع انتشار عفونت حیوان آلوده می‌باشد و در این میان حیواناتی که رژیم غذایی گیاه‌خواری دارند و ادرار قلیایی تولید می‌کنند از اهمیت بیش‌تری برخوردار می‌باشند (Adler و Pena Mocrezuma، ۲۰۱۰). مشخص شده است که گاوهای آلوده می‌توانند تا ۷ سال از نظر سرولوژیکی نسبت به این باکتری مثبت باشند. دام آلوده، آب و مواد غذایی و سایر دام‌ها را از طریق ادرار، جنین سقط شده، ترشحات رحمی و شیر آلوده می‌سازد (Radostits و همکاران، ۲۰۰۷).در این‌راستا مطابق گزارش محققان مهم‌ترین راه انتقال بیماری در بین گاوهای مورد مطالعه در استان‌های چهارمحال و بختیاری و اصفهان تماس با ترشحات آلوده دام سقط کرده می‌باشد (Momtaz و Moshkelani، ۲۰۱۲). در بررسی که توسط گروهی از محققین در گاوهای تبریز صورت گرفت مشخص شد که بیش‌ترین درصد موارد مثبت بیماری مربوط به فصل پاییز و زمستان می‌باشد (حسن‌پور و همکاران، ۱۳۸۶). هم‌چنین براساس گزارش محققین بزهایی که از لحاظ سرمی مثبت بودند در مناطق سیل‌خیز و دارای رودخانه‌های کوچک زندگی می‌کردند (Lilenbaum و همکاران، ۲۰۰۷). با توجه به گزارش فوت یک کشاورز در روستای حیدرآباد شهرستان گرگان به‌علت لپتوسپیروز و نیز بروز تلفات غیرعادی در جمعیت موش‌های جنگلی، در جنگل‌های حاشیه سیاهرودبار شهرستان علی‌آباد کتول (زهتاب، ۱۳۸۳) و بررسی که در سال ۸۳ در مورد ۲۰ بیمار ارجاعی به بیمارستان ۵ آذر گرگان انجام شد که ۱۲ مورد با آزمایش MAT نسبت به بیماری لپتوسپیروز مثبت بودند (گلشا، ۱۳۸۶)، هم‌چنین شرایط جوی استان گلستان که از رطوبت بالایی برخوردار است بررسی لپتوسپیروز در استان ضروری به‌نظر می‌رسید.

مواد و روش‌ها

انتخاب نمونه برای سهولت کار به‌صورت خوشه‌ای انجام شد. پس از اخذ مشخصات دامداری‌ها شامل تعداد دام و آدرس از اداره کل دامپزشکی استان، صد دامداری به‌صورت تصادفی در استان به‌روش PPS (Probability Proportional to Size) و در هر یک از دامداری‌ها (متناسب تعداد دام در دامداری) انتخاب شدند به گونه‌ای که مجموعاً تعداد دام‌های انتخابی به ۵۰۰ راس برسد.

جدول ۱: تعداد نمونه در هر شهرستان

ردیف	نام شهرستان	تعداد نمونه
۱	آزاد شهر	۴۳
۲	آق قلا	۷۴
۳	سیمین شهر	۵۶
۴	بندرگز	۵۷
۵	رامیان	۲۱
۶	علی آباد	۳۶
۷	کردکوی	۳۶
۸	کلاله	۲۱
۹	گرگان	۲۸
۱۰	گنبد	۵۴
۱۱	مینو دشت	۲۵
۱۲	گمیشان	۵۴

جهت انجام کار ابتدا پرسشنامه مربوط به روستاهای هر شهرستان شامل تاریخ نمونه‌گیری، نام روستا و سن گاو تکمیل گردید. لازم به ذکر است که نمونه‌برداری در سه فصل بهار، تابستان و پاییز انجام شد. از هر گاو ۱۰-۵ میلی‌لیتر خون از ورید وداج گرفته شد و در آزمایشگاه، نمونه‌های خون در سانتریفوژ با ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و سرم خون جداسازی شد. سرم‌های جدا شده تا زمان انجام آزمایش سرولوژی MAT (تست استاندارد طلایی برای تشخیص لپتوسپیروز) (Amjad و Ijaz، ۲۰۱۹؛ OIE، ۲۰۰۸) فریز شدند. در روشMAT از سروتیپ‌های ۲۰ سروگروپ لپتوسپیرا استفاده‌شد(Bahariو Abdollahpour، ۲۰۱۱؛ Pinto Pda و Lidonati، ۲۰۱۶؛Sakhaie و Abdollahpour، ۲۰۰۷).بیست آنتی‌ژن لپتوسپیرای زنده برروی‌محیط اختصاصی EMJH حاوی سرم‌خرگوش و مکمل‌های غدایی کشت داده شدند (Honarmand و Khayat، ۲۰۱۰؛ خاکی، ۱۳۹۳). در این آزمایش از کشت‌های ۱۴-۴ روزه باکتری در حرارت ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد در محیط مایع و با تراکم $۱-۲\times۱۰^{۸}$ لپتوسپیرا در میلی‌لیتر استفاده گردید. ابتدا از سرم‌ها رقت تهیه و سپس در یک لوله آزمایش استریل، هم‌حجم سرم، آنتی‌ژن رقیق شده به آن افزوده شد. سپس این لوله‌ها به‌مدت ۴-۱/۵ ساعت در گرمخانه با دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از طی زمان گرمخانه‌گذاری‌باتهیه‌لام Wet mount و مشاهده به‌وسیله میکروسکوپ زمینه تاریک میزان درصد تحرک لپتوسپیرا بررسی گردید. درصورتی که بیش از ۵۰ درصد لپتوسپیراها آگلوتینه شدند، آن رقت را به‌عنوان مثبت تلقی کرده و تیتر به‌دست آمد. درصورتی‌که آگلوتیناسیونی در لام مشاهده نشد و لپتوسپیراها زنده و فعال بودند، آن منفی گزارش شد. در این بررسی عیار سرمی معادل ۱:۱۰۰ و یا بالاتر مثبت و سرم‌های فاقد عیار و یا دارای عیار برابر با ۱:۵۰ منفی محسوب گردید (خاکی، ۱۳۹۳). درنهایت اطلاعات به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون Chi-square تجزیه و تحلیل آماری با سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد.

نتایج

فراوانی و درصد آلودگی گاوها به باکتری لپتوسپیرا در شهرستان‌های مختلف استان گلستان: همان‌طورکه در جدول ۲ مشاهده می‌شود از مجموع ۵۰۵ سرم‌خون گرفته‌شده، ۱۳۷ نمونه سرم خون (۲۷/۱۲٪) حداقل به یک سرووواریته واکنش مثبت نشان دادند.

جدول ۲: فراوانی و درصد آلودگی گاوها به باکتری لپتوسپیرا در شهرستان‌های مختلف استان گلستان

شهرستان	مثبت		منفی		کل	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
گرگان	۱۰	۳۵/۷۱	۱۸	۶۴/۲۸	۲۸	۵/۵۵
آق قلا	۱۸	۲۴/۳۲	۴۶	۷۵/۶۷	۷۴	۱۴/۶۵
کردکوی	۹	۲۵	۲۷	۷۵	۳۶	۷/۱۲
بندرگز	۱۱	۱۹/۲۹	۴۶	۸۰/۷۰	۵۷	۱۱/۳۰
سیمین‌شهر	۱۵	۲۶/۷۸	۴۱	۷۳/۲۱	۵۶	۱۱/۱۰
رامیان	۱۳	۶۱/۹۰	۸	۳۸/۰۹	۲۱	۴/۱۵
گنبد	۸	۱۴/۸۱	۴۶	۸۵/۱۸	۵۴	۱۰/۷۰
آزادشهر	۱۱	۲۵/۵۸	۳۲	۷۴/۴۱	۴۳	۸/۵۱
کلاله	۲	۹/۵۲	۱۹	۹۰/۴۷	۲۱	۴/۱۵
مینو دشت	۶	۲۴	۱۹	۷۶	۲۵	۴/۹۵
علی‌آباد	۱۴	۳۸/۸۸	۲۲	۶۱/۱۱	۳۶	۷/۱۲
گمیشان	۲۰	۳۷/۰۳	۳۴	۶۲/۹۶	۵۴	۱۰/۷۰
کل	۱۳۷	۲۷/۱۲	۳۶۸	۷۲/۸۷	۵۰۵	۱۰۰

آلودگی سرم خون گاوها به لپتوسپیرا در فصول مختلف: همان‌طورکه جدول ۳ نشان می‌دهد میزان آلودگی در فصل بهار ۲۴/۳۷، فصل ۳۷/۹۳ و در فصل پاییز ۲۷/۰۷ درصد می‌باشد. بررسی آماری نتایج موید آن است که ارتباط معنی‌داری بین فصل و آلودگی سرولوژیک وجود ندارد.

جدول ۳: آلودگی سرم خون گاوها به باکتری لپتوسپیرا در سه فصل سال در استان گلستان

فصل	مثبت		منفی		کل	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
بهار	۸۸	۲۴/۳۷	۲۷۳	۷۵/۶۲	۳۶۱	۷۱/۴۹
تابستان	۳۳	۳۷/۹۳	۵۴	۶۲/۰۶	۸۷	۱۷/۲۲
پاییز	۱۶	۲۸/۰۷	۴۱	۷۱/۹۲	۵۷	۱۱/۲۹
جمع	۱۳۷	۲۷/۱۲	۳۶۸	۷۲/۸۸	۵۰۵	۱۰۰

فراوانی سروواروها: سرووارِیته‌های غالب در استان گلستان شامل ایکتروهموراژیه (۳۲/۷۵ ٪)، سرجروهاردجو (۲۶/۳۱ ٪)، اتومنالیس (۲۲/۲۲٪) ،گریپوتیفوزا (۹/۹۵٪)، پومونا (۵/۲۷٪) بودند. از بین سایر سروتیپ‌ها نیز کانیکولا (۳/۵۰٪) موارد مثبت را شامل می‌شدند.

آلودگی سرم خون گاوها به باکتری لپتوسپیرا برحسب سن: همان‌طورکه جدول ۴ نشان می‌دهد بیش‌ترین فراوانی نسبی موارد مثبت مربوط به گروه سنی ۳-۲ سال بود.

جدول ۴: آلودگی سرم خون گاوها به باکتری لپتوسپیرا بر حسب سن در استان گلستان

سن (سال)	مثبت		منفی		کل	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
۰-۱	۳	۳۷/۵	۵	۶۲/۵	۸	۱/۹۵
۱-۲	۴	۱۹/۰۴	۱۷	۸۰/۹۵	۲۱	۴/۱۵
۲-۳	۱۰	۵۲/۶۳	۹	۴۷/۳۶	۱۹	۳/۷۶
۳-۴	۶۱	۲۹/۰۴	۱۴۹	۷۰/۹۵	۲۱۰	۴۱/۵۹
۴-۵	۳۹	۱۹/۲۸	۱۳۴	۸۰/۷۲	۱۶۶	۱۸/۲۴
سن >۵	۲۰	۳۳/۳۳	۴۰	۶۶/۶۶	۶۰	۱۱/۸۹
مجموع	۱۳۷	۲۷/۱۲	۳۶۸	۷۲/۸۷	۵۰۵	۱۰۰

فراوانی و درصد تیترهای سرمی: همان‌طورکه جدول ۵ نشان می‌دهد در بین موارد مثبت بیش‌ترین درصد فراوانی مربوط به ایکترو هموراژیه (۳۲/۷۵ ٪) و بعد از آن سرجروهاردجو (۲۶/۳۱ ٪) می‌باشد. هم‌چنین بیش‌ترین فراوانی (۳۰/۹۹٪) در تیتر ۱/۸۰۰ مشاهده شد.

جدول ۵: فراوانی و درصد تیترهای سرمی سروارهای لپتوسپیروز در خون گاوهای استان گلستان

سروار	۱/۲۰۰		۱/۴۰۰		۱/۸۰۰		۱/۱۶۰۰		۱/۳۲۰۰		۱/۶۴۰۰		کل	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
گریپوتیفوزا	۰	۰	۰	۰	۷	۴/۰۹	۴	۲/۳۳	۲	۱/۱۶	۴	۲/۳۳	۱۷	۹/۹۵
سرجروهاردجو	۰	۰	۵	۲/۹۲	۹	۵/۲۶	۱۵	۸/۷۷	۹	۵/۲۶	۷	۱۵/۵۵	۴۵	۲۶/۳۱
کانیکولا	۰	۰	۱	۰/۵۸	۱	۰/۵۸	۱	۰/۵۸	۳	۱/۷۵	۰	۰	۶	۳/۵۰
پومونا	۰	۰	۰	۰	۴	۲/۳۳	۳	۱/۷۵	۲	۱/۶۴	۰	۰	۹	۵/۲۷
ایکتروهموراژیه	۰	۰	۳	۱/۷۵	۲۱	۱۲/۲۸	۱۳	۷/۶۰	۱۳	۷/۶۰	۶	۳/۵۰	۵۶	۳۲/۷۵
اتومنالیس	۱	۰/۵۸	۰	۰	۱۱	۶/۴۳	۱۲	۷/۰۱	۹	۵/۲۶	۵	۲/۹۲	۳۸	۲۲/۲۲
کل	۱	۰/۵۸	۹	۵/۲۶	۵۳	۳۰/۹۹	۴۸	۲۸/۰۷	۳۸	۲۲/۲۲	۲۲	۱۲/۸۶	۱۷۱	۱۰۰

بحث

در مطالعه حاضر از ۵۰۵ راس گاو در سنین مختلف در سطح استان گلستان نمونه خون تهیه و نمونه‌ها به‌روش میکروآگلوتیناسیون مورد بررسی سرولوژی قرار گرفت.

فراوانی و درصد آلودگی گاوها به باکتری لپتوسپیرا در شهرستان‌های مختلف استان گلستان: در مطالعه‌ای که بر روی ۹۱۰ نمونه سرم خون گاوهای استان گلستان انجام شده بود ۱۷۰ نمونه (۱۹ در صد) حداقل به یک سرووارِیته واکنش مثبت نشان داده بودند (پورغفور، ۱۳۹۷). مطالعات مشابهی که در سایر مناطق کشور انجام گرفته است آلودگی گاوها به باکتری لپتوسپیرا را تائید می‌کند. در مطالعه‌ای که بر روی ۱۰۰۰ نمونه سرمی از دام‌های مشکوک به لپتوسپیروز در استان مازندران انجام گرفت، نتایج نشان داد ۱۱/۶ درصد از نمونه‌های سرمی آلوده بودند (واحدی‌نوری، ۱۳۷۹). در بررسی که در استان گیلان و مازندران انجام داد ۱۶ درصد از نمونه‌ها در استان گیلان و ۱۷/۱۴ درصد از نمونه‌های استان مازندران دارای عیار آنتی‌بادی علیه لپتوسپیرا بودند (خاکی، ۱۳۹۳).

آلودگی سرم خون گاوها به لپتوسپیرا در فصول مختلف: بررسی آماری نتایج موید آن است که ارتباط معنی‌داری بین فصل و آلودگی سرولوژیک وجود ندارد. در مطالعه‌ای بیش‌ترین میزان آلودگی در استان گلستان در بهار ۲۲/۰۲ و تابستان ۱۸/۷۹ گزارش شده است (پورغفور، ۱۳۹۷). در این راستا شیوع لپتوسپیروز درگاوهای استان گیلان مورد بررسی قرار گرفته و عنوان شدکه بیش‌ترین میزان آلودگی در فصل بهار بوده است (اسدپور، ۱۳۸۴). هم‌چنین در مطالعه‌ای در اسپانیا بیش‌ترین میزان‌وقوع بیماری در فصل بهار بوده است (Guitian وهمکاران، ۲۰۰۱).می‌توان گفت بالابودن میزان آلودگی گاوهابه باکتری لپتوسپیرا در فصل تابستان به‌علت رهاسازی دام‌ها در مزارع و شرایط آب‌و هوائی می‌باشد چون بیماری عمدتاً در فصل پر باران (تابستان یا اواخر بهار حتی و پاییز) رخ می‌دهد (Zavitansou و Babatsikou، ۲۰۰۸).

فراوانی سروواریها: سرووایریته‌های غالب در استان گلستان شامل ایکتروهموراژیه (۳۲/۷۵٪)، سرجروهاردجو (۲۶/۳۱٪)، اتومنالیس (۲۲/۲۲٪) ،گریپوتیفوزا (۹/۹۵٪)، پومونا (۵/۲۷٪) بودند. از بین سایر سروتیپ‌ها نیز کانیکولا (۳/۵۰ درصد) موارد مثبت را شامل می‌شدند. در مطالعه‌ای که در استان گلستان انجام شد سروار غالب گریپوتیفوزا (۴۱/۱۵٪) و سایر سروارها سرجروهاردجو (۳۵/۸۹٪)، کانیکولا (۲۲/۴۹٪) و پومونا (۰/۴۸٪) واکنش مثبت داشتند(پورغفور، ۱۳۹۷). در این راستا شیوع لپتوسپیروز در گاوهای استان گیلان مورد بررسی قرار گرفت گریپوتیفوزا با ۳۶/۳۳٪ سروار غالب و سروارهای بعدی ایکتروهموراژیه ۲۲/۷٪، سرجروهاردجو ۱۲/۲۵٪، پومونا ۱۶/۶۸٪ و کانیکولا ۷/۲۵٪ بودند (اسدپور، ۱۳۸۴). در تحقیقی که در گیلان و مازندران انجام دادند سروار غالب در هر دو استان ایکتروهموراژیه که به ترتیب ۵۷/۱ و ۲۰٪ بوده سروارهای بعدی در استان گیلان سرجروهاردجو ۵۰٪، گریپوتیفوزا ۲۱/۴٪، اتومالیس ۱۷/۸٪ و کانیکولا با کم‌ترین مقدار ۳/۵٪ گزارش شده است (خاکی، ۱۳۹۳). در مطالعه‌ای که در آذربایجان شرقی انجام گرفت، نتایج نشان داد ۴۱/۶۶٪ موارد مثبت مربوط به سروار گریپوتیفوزا می‌باشد. سایر سروارها به‌ترتیب ایکتروهموراژیه ۲۹/۱۶٪، کانیکولا ۱۶/۱۶٪، پومونا ۱۰/۴۱٪ و سرهاردجو ۲/۰۸٪ موارد مثبت را تشکیل می‌داد (Shoaiee، ۱۹۹۴).

آلودگی سرم خون گاوها به باکتری لپتوسپیرا بر حسب سن: همان‌طور که جدول ۴ نشان می‌دهد بیش‌ترین فراوانی نسبی موارد مثبت مربوط به گروه سنی ۳-۲ سال بود. در مطالعه دیگری در استان گلستان بیش‌ترین فراوانی مثبت مربوط به گروه سنی ۳-۲ سال بود (پورغفور، ۱۳۹۷).در مطالعه‌ای که بر روی گاوهای مشهد انجام گرفت، بیش‌ترین میزان آلودگی در گاوها به باکتری لپتوسپیرا بین ۴-۲ سالگی گزارش شد (Grosi و همکاران، ۲۰۰۳). در بررسی که در گیلان انجام شد بیش‌ترین میزان آلودگی در گاوهای ۴-۳ ساله مشاهده گردید (اسدپور، ۱۳۸۴). هم‌چنین در تحقیقی که در مازندران انجام دادند بیش‌ترین میزان آلودگی در سن ۹-۸ سالگی گزارش شد (واحدی‌نوری، ۱۳۷۹). در تحقیقی که در هند روی گاومیش‌ها انجام دادند بیش‌ترین آلودگی در گاومیش‌های ۴-۱ ساله دیده شدند هرچند که نتیجه گرفتند آلودگی به باکتری لپتوسپیرا به سن و جنس وابسته نیست (Patel و همکاران، ۲۰۱۶). در بررسی دیگری در تایلند ثابت شد آلودگی دام‌ها به باکتری لپتوسپیرا به سن و جنس دام وابسته نیست (Suwancharoen و همکاران، ۲۰۱۳).

فراوانی و درصد تیترهای سرمی: همان‌طور که جدول ۵ نشان می‌دهد در بین موارد مثبت بیش‌ترین درصد فراوانی مربوط به ایکترو هموراژیه (۳۲/۷۵٪) و بعد از آن سرجروهاردجو (۲۶/۳۱٪) می‌باشد. هم‌چنین بیش‌ترین فراوانی (۳۰/۹۹٪) در تیتر ۱/۸۰۰ مشاهده شد. در بررسی دیگری در استان گلستان بیش‌ترین فراوانی(۳۳/۴۹٪) در تیتر ۱/۴۰۰ گزارش شده است (پورغفور، ۱۳۹۷). درحالی‌که در تحقیقی که در گیلان صورت گرفت بیش‌ترین فراوانی (۴۵/۹٪) در تیتر سرمی ۱/۲۰۰ مشاهده گردید. در این مورد شیوع لپتوسپیروز در گاوهای استان گیلان مورد بررسی قرار گرفت، ۸۸/۴۶٪ نسبت به یک سروار و ۱۱/۵۴٪ نسبت به بیش از یک سروار تیتر پادتنی داشتند. هم‌چنین بیش‌ترین فراوانی (۴۵/۹٪) را در تیتر سرمی ۱/۲۰۰ گزارش دادند (اسدپور، ۱۳۸۴).در بررسی که در گیلان انجام دادند ۲۵/۸٪ از گاوها به یک یا چند سروار واکنش مثبت داشتند (Abdollahpour، ۲۰۰۹). نتایج نشان داد که از کل نمونه‌ها تعداد ۱۳۷ نمونه دارای پاسخ سرمی سرولوژی مثبت بوده که از این تعداد ۱۰۸ نمونه (۷۸/۸۴٪) تنها با یک سروار، ۲۵ نمونه (۱۸/۲۵٪) با دو سروار و ۴ نمونه (۱/۹۸٪) با سه سروار واکنش نشان دادند. در تمام نمونه‌های دارای پاسخ سرمی سرولوژی مثبت، ۳۲/۷۵٪ با ایکتروهموراژیه، ۲۶/۳۱٪ با سرجروهاردجو، ۲۲/۲۲٪ با اتومالیس، ۹/۹۵٪ گریپوتیفوزا، ۵/۲۷٪ با پومونا و ۳/۵۰ با کانیکولا واکنش مثبت نشان دادند. هم‌چنین بیش‌ترین فراوانی (۳۰/۹۹ ٪) در تیتر ۱/۸۰۰ مشاهده گردید. هم‌چنین نتایج بررسی آماری نشان دادند که اختلاف معنی‌داری بین فصل و سن و درصد آلودگی وجود ندارد. با توجه به این که آزمایش میکرواگلوتیناسیون می‌تواند در مطالعات اپیدمیولوژیک، بررسی سروگروپ‌ها و تشخیص بیماری به‌کار رود و با توجه به این که کشت نمونه‌های بالینی به زمان زیادی نیاز دارد، لذا می‌تواند به‌عنوان روشی برای بررسی شیوع بیماری، سرووارهای غالب و در گردش بیماری مورد استفاده قرار گیرد. عفونت لپتوسپیرایی در سطح استان به‌طور فعال وجود دارد. هم‌چنین مقایسه سروتیپ غالب حاکی از تغییر نوع عامل بیماری‌زا از گریپتوفوزا در سال ۲۰۰۷ به ایکتروهموراژیه در زمان تحقیق حاضر بود که پیشنهاد می‌شود بر پایه سویه‌های جدید جدا شده از باکتری لپتیوسپیرا درگاوهای استان گلستان، واکسن مربوطه توسط موسسات واکسن‌سازی برای مقابله با شرایط جدید تغییر یابد. این موضوع در پیشگیری بیماری در دام‌ها و در نهایت سلامت جامعه انسانی بسیار مهم است.

تشکر و قدردانی

نویسنده این مقاله از جناب آقای دکتر پژواک خاکی ریاست بخش میکروب‌شناسی موسسه تحقیقات رازی و خانم دکتر سهیلا مرادی به خاطر همکاری در اجرای پروژه کمال تشکر و امتنان را دارد.

منابع

۱. **اسدپور، ی.، ۱۳۸۴.** مطالعه سرمی لپتوسپیروز در گاوهای استان گیلان. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی موسسه تحقیقات رازی.

۲. **پورغفورلنگرودی، پ.، ۱۳۹۷.** بررسی زاپیدمی لپتوسپیروز در گاوهای استان گلستان طی سال‌های ۸۵-۸۶. فصلنامه محیط زیست جانوری. سال ۱۰، شماره ۴، صفحات ۵۳ تا ۵۸.

۳. **حسن‌پور، ا. و فرتاش‌وند، م.، ۱۳۸۶.** تعیین میزان شیوع سرولوژیک آلودگی به لپتوسپیرا در گاوداری‌های شیری اطراف تبریز. پژوهش سازندگی. شماره ۷۴، صفحات ۶۷ تا ۷۷.

۴. **خاکی، پ. و روحی، ز.، ۱۳۹۳.** کاربرد روش میکروآگلوتیناسیون در تعیین سروارهای لپتوسپیرا. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان. دوره ۱۶، شماره ۳، صفحات ۹۹ تا ۱۰۵.

۵. **زهتاب، ح.، ۱۳۸۳.** گزارش اداره کل دامپزشکی گلستان.

۶. **طباطبایی، م. و فیروزی، ر.، ۱۳۸۰.** بیماری‌هایی باکتریایی دام. انتشارات دانشگاه تهران. صفحات ۴۳۱ تا ۴۳۵.

۷. **عبدالله‌پور، غ.، ۱۳۶۶.** بررسی سرواپیدمیولوژی لپتوسپیروز در دام‌های کوچک. پایان‌نامه دکترا. دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران.

۸. **گلشا، ر. و خدابخشی، ب.و.، ۱۳۸۶.** گزارش ۱۲ مورد از بیماری لپتوسپیروز در استان گلستان در سال ۱۳۸۳. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان. دوره ۹، شماره ۲، صفحات ۷۶ تا ۸۰.

۹. **مقامی، ق.، ۱۳۵۹.** بررسی لپتوسپیروز دربچه‌انداری ماده گاوهای اطراف تهران. انتشارات سازمان دامپزشکی. شماره ۲۰، صفحات ۵۰ تا ۶۰.

۱۰. **واحدی‌نوری، ن.، ۱۳۷۹.** شناسایی سویه‌های غالب لپتوسپیرا در گاوهای مشکوک در استان مازندران.گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی موسسه تحقیقات رازی.

۱۱. **Abdolahpour, G. and Shfighi, T., 2009.** Serodiagnosis of leptospirosis in cattle in north of Iran, Gilan. J Vet Res. Vol. 3, No. 1, pp: 7-10.

۱۲. **Adler, B. and Pena Mocrezuma, A., 2010.** Leptospira and leptospirosis. Vet microbial. Vol. 140, pp: 287-296.

۱۳. **Agésilas, F.; Gey, F.; Monbrunt, A.; Combes, JC.; Llanas, B. and Schlossmacher, P., 2005.** Acute leptospirosis in children in Reunion Island: a retrospective review of 16 cases. Arch Pediatr. Vol. 12, No. 9, pp: 1344-1348.

۱۴. **Alanso-Andicoberry, C.; Garcia-Pena, F.J.; Pereira Bueno, J.; Costas, E. and Ortego-Mora, L.M., 2001.** Herd level risk factors associated with *leptospira* spp. Seroprevalence in dairy and beef catle in Spain. Preventive veterinary medicine. Vol. 52, pp: 109-117.

۱۵. **Amjad Islam, A. and Ijaz, M., 2019.** Leptospirosis: Rising Nuisance for cattle and threat to public health. Bacterial Cattle Disease.

۱۶. **Bahari, A. and Abdollahpour, G., 2011.** A serological survey on leptospirosis in aborted dairy cattle in industrial farms of hamedan suburb, Iran. Iranian Jornal of Veterinary Research, Shiraz university. Vol. 12, No. 4, 37 p.

۱۷. **Barkin, R.M.; Gackian, I.C. and Glosser, I.W., 1974.** Infection by *Leptospira ballum*: a laboratory associated case. South. Med. J. Vol. 67, pp: 155-156.

۱۸. **Brenner, J.; Kaufmann, A.F.; Sulzerk, R.; Steigerwalt, A.G.; Rogers, F.C. and Weyant, R.S., 1999.** Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new *Leptospira genomospecies*. Int. J. Syst. Bacteriol. Vol. 49, pp: 839-858.

۱۹. **Department of Agriculture, Fisheries and Forestry Australia. 2000.** A scientific review of leptospirosis and implication for quarantine policy. Biosecurity Australia. pp: 1-93.

۲۰. **Grosi, T.; Vand Yoosefi, M.; Famil Ghadakchi, J. and Noroozian, H.V., 2003.** Epidemiologic survey of leptospirosis in staff and dairy herds of livestock around Mashhad. Journal of Faculty of Veterinary Medicine of Tehran. Vol. 58, No. 1, pp: 89-94. (In Persian)

۲۱. **Guitian, F.J.; Garcia- pena, F.J.; Olivera, J. and Yus, E., 2001.** Serological study of the frequency of leptospira infection among dairy cows in farms with suboptimal reproductive efficiency in galicia, spain, veterinary microbiology. Vol. 80, pp: 275-284.

۲۲. **Haji Hajikolaei, M.R.; Ghorbanpour, M. and Abdollahpour, G., 2005.** Serological study of Leptospirosis in cattle in Ahvaz. J Faculty of Vet Med, Univ Tehran. Vol. 60, pp: 7-15.

۲۳. **Herrmann-Stock, C. and Brioudes, A., 2005.** Retrospective review of leptospirosis in Goadeloupe French West Indies 1994-2001.West Indian Med J. Vol. 54, No. 1, pp: 42-46.

۲۴. **Honarmand, HR. and Khayat, I., 2010.** Isolation of phatogenic leptospires from blood samples of patients by PCR-RFLP method. J Gorgan Uni Med Sci. Vol. 12, No. 1, pp: 70-79.

۲۵. **Jor, I.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. Vol. 86, pp: 383-387.

۲۶. **Lau, C.L.; Smythe, L.D.; Craig, S.B. and Weinstein, P., 2010.** Climate change, flooding, urbanisation and leptospirosis: fuelling the fire? Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. Vol. 104, pp: 631-638.

۲۷. **Levett, P.N., 2004.** Leptospirosis: A forgotten zoonosis. Clinical and Applied Immunology Reviews. Vol. 4, pp: 435-448.

۲۸. **Lilenbaum, W.; Morais, Z.M.; Gonçales, A.P.; Souza, G.O.; Richtzenhain, L. and Vasconcellos, S.A., 2007.** First isolation of leptospires from dairy goats in Brazil. Brazilian Journal of Microbiology. Vol. 38, pp: 507-510.

۲۹. **Momtaz, H. and Moshkelani, S., 2012.** Detection and characterization of Leptospira spp. Isolated from aborted bovine clinical samples. Acta Vet. Brno J.Vol. 81, pp: 21-25.

۳۰. **OIE. 2008.** 2nd Global Conference on Animal Welfare Putting the OIE Standards to Work Cairo (Egypt), 20-22 October.

۳۱. **Patel, J.M. and Vihol, P.D., 2016.** Seroepidemiolgical study of leptospirosis in buffaloes of South Gujarat, India. Buffalo Bulletin.Vol. 35, No. 3, pp: 143-152.

۳۲. **Pinto Pda, S. and Lidonati, H., 2016.** A systemic review on the microscopic agglutination test seroepidemiology of bovine leptospirosis in Latin America. Top Animal Health Pod. Vol. 48, No. 2, pp: 239-248.

۳۳. **Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Hinchcliff K.W. and Constable, P.D., 2007.** Veterinary Medicine. 10th ed. Elsevier. pp: 1094-1110.

۳۴. **Sakhaie, E. and Abdolahpour, A.M., 2007.** Serologic and Bacteriologic diagnosis of bovine leptospirosis in Tehran suburb dairy farms. Iranian J.Vet.Res. Vol. 8, pp: 325-332.

۳۵. **Shoaiee, S., 1994.** Seroepidemiological study f Leptospira infection in East Azarbaijan province. Dissertation for obtaining a doctoral degree in veterinary medicine. Islamic Azad University of Tabriz.

۳۶. **Suwancharoen, D. and Chaisak danugull, Y., 2013.** Seroligical surveyey of leptispirosis in livestock in Thailand.Epidemiol Infect. Vol. 141, No. 11, pp: 2269-2277.

۳۷. **Tangkanakul, W.; Tharmaphornpil, P.; Plikaytis, B.D.; Bragg, S.; Poonsuksombat, D. and Choomkasien, P., 2000.** Risk factors associated with leptospirosis in northeastern Thailand, 1998. Am J Trop Med Hyg. Vol. 63, No. 3-4, pp: 204-208.

۳۸. **Tangkanakul, W. and Smits, H.L., 2005.** Leptospirosis an emerging health problem in Thailand J Trop Med Public Health Mar. Vol. 36, No. 2, pp: 281-288.

۳۹. **Yousefivand, J.; Moradibidhendi, S. and Ahoorai, P. 1995.** New findings about leptospirosis in the Razi Institute. Pajouhesh & Sazandegi. No. 25, pp: 72-75.

۴۰. **Zakeri, S.; Khorami, N.; Ganji, F.Z.; Sepahian, N.; Malmasi, A. and Gouya, M., 2010.** Leptospira wolffi, a potential new pathogenic Leptospira species detected in human, sheep and dog. Research in Veterinary Science. Vol. 10, pp: 273-277.

۴۱. **Zavitansou, A. and Babatsikou, F., 2008.** Leptospirisis epidemiology and preventive measure. Health Sci J. Vol. 2, No. 2, pp: 75-82.