

بررسی موارد بالینی مشکوک به لپتوسپیروز و شناسائی سویه‌های درگیر آن در شهرستان ارومیه

● سید محمود جعفری، عضو هیات علمی مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام آذربایجان غربی
● جلیل وند یوسفی، عضو هیات علمی مؤسسه تحقیقاتی رازی
● علیرضا آذروندی، عضو هیات علمی مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام آذربایجان غربی

✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۳۴، بهار ۱۳۷۶

چکیده

در طول تحقیق نمونه‌های خون، خون تامپون دار، ادرار تامپون دار از دو گروه دامهای بیمار و دامهای در تماس با دامهای بیمار جمع‌آوری گردید. آزمایشات سرولوژیک و کشت اسپیروکت، وجود بیماری لپتوسپیروزیس در گاوهای حومه شهرستان ارومیه را تأیید میکند. سرمها بروش MAT مورد آزمایش قرار گرفتند به طوریکه در تایپینگ نمونه‌های سرمی بروش MAT ۶ سرو تیپ اسپیروکت لپتوسپیروا به شرح ذیل شناسائی شدند.

L.i. grippotyphosa, *L.i. pomona* *L.i. hardjo*, *L.i. canicola*, *L.i. icterohemorrhagia (i.i.)* *L.i. copenhagen (i.c.)*.

L.i. grippotyphosa در میان سرو تیپهای جدا شده از شیوع بیشتری برخوردار می‌باشد و در ۷۳٪ نمونه‌های سرم مثبت این سرو تیپ جدا شده است. نتایج آزمایشات کشت باکتریولوژیک حاکی از جدا شدن *L.i. grippotyphosa* از دو نمونه ادرار تامپون دار بوده است.

مقدمه

بیماری لپتوسپیروز جزء بیماری‌های عفونی است که توسط سرو تیپهای متعدد اسپیروکت‌های لپتوسپیرو (*L.i. interrogans*) در انسان و دام بوجود می‌آید و از مهمترین بیماری‌های مشترک بین انسان و دام بشمار می‌رود. لپتوسپیروز با علائمی نظیر کم خونی، زردی، تب، سستی سمی، هموگلوبینوری، سقط جنین، ورم پستان، خونریزی نقطه‌ای در بافت‌های بدن، باعث بیماری واگیر عفونی در حیوانات و از جمله گاو می‌شود که در بعضی موارد منجر به مرگ دام نیز می‌گردد و براحتی از دام بیمار یا حامل به دامهای سالم و حتی انسان قابل سرایت می‌باشد بیماری لپتوسپیروز از نظر علائم بالینی با بیماریهایی مثل بائریوز، آناپلاسموز، ایکتر و هموگلوبینوری و از نظر سقط جنین با بیماریهای ویبریوز، بروسلوز، لیستریوز و تریکومونیاژیس وجه تشابه دارد. در این طرح سعی شده است دامهای مثبت از نظر بیماری لپتوسپیروز شناسایی و سرو تیپهای لپتوسپیروا مشخص گردند که با انجام تست MAT و کشت نمونه‌های خون تامپون دار و ادرار تامپون دار در محیط کشت، سرمهای تیتیر مثبت و نوع سرو تیپهای شایع شناسایی گردید.

روش کار

به منظور اجرای طرح، دامهای مراجعه شده به کلینک اداره دامپزشکی شهرستان ارومیه و نیز در مانگاه

کار تحقیقی جمع‌آوری گردید. ۱۳۰ نمونه خون (سرم) اخذ شده متعلق به ۸۷ رأس گاو و گوساله می‌باشد که با توجه به سیر بیماری و پیشرفت آن از بعضی از دامهای مشکوک در مواردی ۲ نمونه و حتی ۳ نمونه سرم در فواصل زمانی متفاوت اخذ شد تا نتایج سرو لوژیک، مطمئن تر و دقیق تر باشد.

از ۸۷ رأس گاو و گوساله بررسی شده، ۷۱ رأس مشکوک به بیماری لپتوسپیروز بودند که علائم بالینی بیماری را کم و بیش از خود نشان می‌دادند و ۱۶ رأس بقیه در تماس با بیماران بودند و به لحاظ اینکه با دام بیمار مشکوک به لپتوسپیروز در تماس بودند و در یک محیط مشترک می‌زیستند، نمونه برداری انجام گرفته است. آزمایشات سرو لوژیک بروش MAT جهت تعیین تیترو تایپینگ صورت گرفت و برای کشت نمونه‌های ادرار تامپون دار و خون تامپون دار از محیط کشت EMJH استفاده شده است.

نتایج

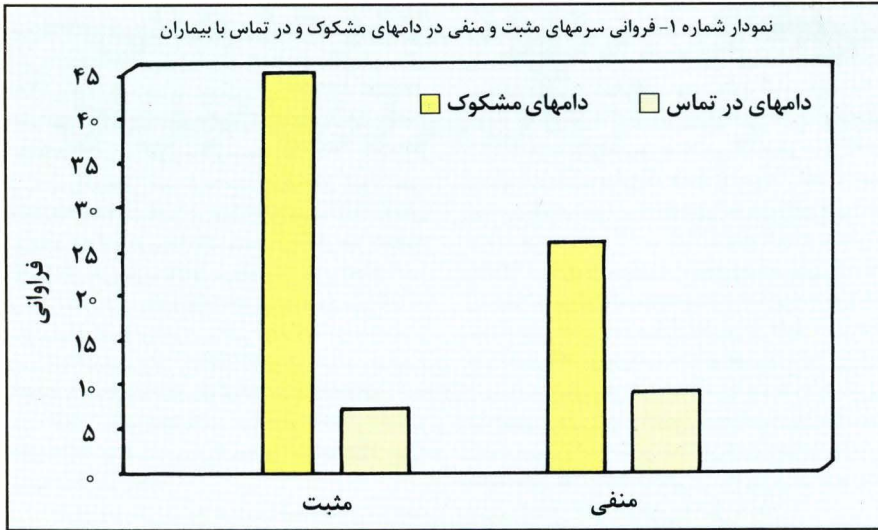
نتایج آزمایشات سرو لوژیک و کشت میکروبی مؤید وجود بیماری لپتوسپیروزیس در جمعیت گاوی در سطح منطقه شهرستان ارومیه می‌باشد. از ۷۱ رأس گاو مشکوک به بیماری لپتوسپیروز ۴۵ رأس (۶۳/۵٪) دارای تیتیر مثبت بودند و از ۱۶ رأس گاو، گوساله در تماس با بیماران در ۷ مورد (۴۳/۷٪) تیتیر مثبت وجود داشت (جدول و نمودار شماره ۱).

دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه که از نظر بیماری لپتوسپیروز مشکوک بودند ابتدا از لحاظ علائم بالینی مورد معاینه قرار می‌گرفتند و سپس نشانه‌های مربوطه ثبت می‌گردید و بدنبال آن به دفعات از دامهای مشکوک و دامهای در تماس با بیماران در نوبتهای مختلف در محل روستا نمونه‌های خون جهت تهیه سرم، خون تامپون دار و ادرار تامپون دار تهیه می‌شد. علائم ثبت شده از دامهای بیمار در طول اجرای طرح عبارتند از تب، افسردگی، بی‌اشتهایی، کم‌خونی، یرقان زعفرانی، هموگلوبینوری، تنگی نفس و تاکیکاردی که در اغلب موارد قابل مشاهده بودند و نیز عارضه تورم پستان که فقط در یک مورد دیده شد.

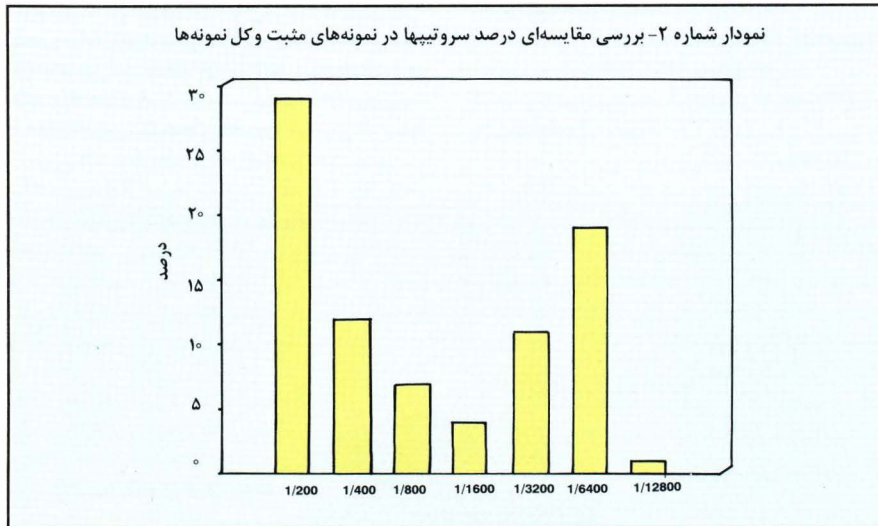
در طول اجرای طرح در مجموع، ۱۳۰ نمونه سرم، ۹ نمونه خون تامپون دار و ۸ نمونه ادرار تامپون دار جمع‌آوری شد. نمونه‌برداری از دامهای مشکوک با در نظر گرفتن سیر بیماری و متناسب با دوره بیماری و پیشرفت آن صورت می‌گرفت.

به طوریکه در دوره تب نمونه‌های خون تامپون دار تهیه می‌شد. نمونه‌های ادرار تامپون دار در مراحل بعدی، موقعی که دوره تب فروکش کرده جمع‌آوری می‌شد که هر دو نمونه ادرار تامپون دار و خون تامپون دار برای کشت مورد استفاده قرار می‌گرفتند نمونه‌های خون بدون تامپون حداقل پس از دو هفته از آغاز بیماری زمانی که تشکیل پادتن شروع شده از دامهای مشکوک اخذ می‌شد. در مجموع ۱۳۰ نمونه سرم، ۹ نمونه خون تامپون دار و ۸ نمونه ادرار تامپون دار در این

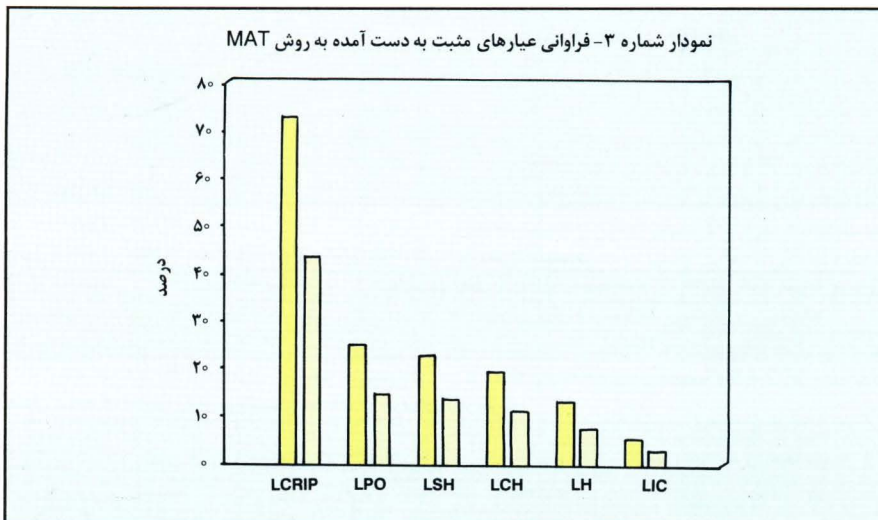
نمودار شماره ۱- فراوانی سرمهای مثبت و منفی در دامهای مشکوک و در تماس با بیماران



نمودار شماره ۲- بررسی مقایسه‌ای درصد سروتیپها در نمونه‌های مثبت و کل نمونه‌ها



نمودار شماره ۳- فراوانی عبارهای مثبت به دست آمده به روش MAT



در طی این تحقیق با استفاده از روش MAT و کشت میکروبی، وجود ۶ سروتیپ لپتوسپیروز در منطقه محرز شد که به شرح ذیل می‌باشد:

- ۱- *L.i. grippityphosa*
- ۲- *L.i. pomona*
- ۳- *L.i. hardjo*
- ۴- *L.i. canicola*
- ۵- *L.i. icterohemorrhagia (i.i.)*
- ۶- *L.i. copenhagen (i.c.)*

در بین سروتیپهای شایع در منطقه، *L.i. grippityphosa* در مقایسه با سایر سروتیپها از فراوانی بیشتری برخوردار بود به طوری که در ۷۳٪ سرمهای مثبت *L.i. grippityphosa* شناسائی شده است (جدول و نمودار شماره ۲).

در آزمایش سرمهای مثبت در ۲۶ نمونه فقط یک سروتیپ و در ۲۲ نمونه ۲ سروتیپ و در ۳ نمونه سرم مثبت ۳ سروتیپ و فقط در یک نمونه سرم مثبت چهار سروتیپ شناسائی گردید. بر همین اساس در ۵۰٪ نمونه‌های تیتراژ مثبت فقط یک سروتیپ و در ۱/۹۲٪ نمونه‌های تیتراژ مثبت چهار سروتیپ لپتوسپیروز وجود داشت.

همچنین روش MAT حداقل عیار مثبت ۱/۱۰ و حداکثر عیار ۱/۳۳۰ شناسائی شد. فراوانی عبارهای مختلف شناسائی شده در نمودار شماره ۳ آمده است.

از نمونه‌های خون تامپون‌دار و ادرار تامپون‌دار برای کشت در محیط EMJH استفاده شد که فقط در ۲ نمونه ادرار تامپون‌دار رشد اسپروکت از نوع *L.i. grippityphosa* مشاهده شد.

بحث

بیماری لپتوسپیروز یک بیماری عفونی واگیردار است که به وسیله سروتیپهای متعدد *L.i. interrogans* ایجاد می‌شود. بیماری لپتوسپیروز گرچه گروه زیادی از دامهای اهلی و غیر اهلی را مبتلا می‌سازد اما در گاو از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. پژوهش انجام یافته در مورد بیماری لپتوسپیروز در کشور کنیا در سال ۱۹۹۱ در گاو، گوسفند و بز درصد آلودگی سروتیپهای *L.i. i. grippityphosa* و *L.i. wolffi*، *L.i. hardjo* در گاو به ترتیب ۲۸/۵٪، ۱۸/۳٪ و ۹٪ مشخص نمود، در حالی که درصد آلودگی سروتیپهای *L.i. hardjo* و *L.i. wolffi* در بز به ترتیب ۳/۴٪ و ۲/۷٪ و در گوسفند درصد آلودگی سروتیپ *L.i. hardjo* ۲٪ می‌باشد که نتایج اهمیت وقوع بیماری لپتوسپیروز در گاو را در مقایسه با گوسفند و بز و حساس بودن گاو را نسبت به این بیماری نشان می‌دهد.

سروتیپهای لپتوسپیروز در مناطق مختلف از تنوع زیاد و متفاوت برخوردار می‌باشد که در هر منطقه سروتیپهای خاصی عامل اتیولوژیک بیماری لپتوسپیروز را تشکیل می‌دهند. بررسیهای سرولوژیک صورت یافته (Agaev, I. A. 1992) در جمهوری آذربایجان در گاوهای منطقه قفقاز موجب شناسائی *L.i. grippityphosa* و *L.i. pomona* گردید همچنین نتایج تحقیقات انجام گرفته در بخش شمالی اردن (EL-Sukhon and others, 1992)

منابع مورد استفاده

1- Agaev, I.A., 1992, Self perpetuation of foci of bovine leptospirosis, Zhurnal Mikrobiologii, epidemiologii i Immunobiologii. No. 3, 41-44 [Ru, en, 15 ref.] Meditsinskii Universitet, Baku, Azarbaijan.

2- Arda, M., 1985, Ozel Mikrobioloji. 325-338 Ank.U. Vet. Fak. Ank. Turkey.

3- Blood, D.C. and Radostits, O.M., 1989. Veterinary medicine, 7th ed. Baillere Tindal. London; pp. 758-768.

4- EL-Sukhon, S.N., Abu-Shehdad, M.N. Abu-Harfiel, N. Atmeh R.F., 1992, Prevalance of leptospiral antibodies in cattle in Northern Jordan. Tropical Animal health and production. 24 (2) 127-128 [En, 8 ref.] Department of veterinary medicine and animal science, Jordan University of science and technology, Irbid, Jordan.

5- Kocik, T., 1992, Bovine leptospirosis epidemiological studies in northern regions of Poland. Medycyna weterynaryjna, 48 (1) 11-13 [Pl, en, 29 ref.] Zaklad Higieny weterynaryjnej, UL.i. Kaprow 10. 80-316 Gdansk, Oliwa, Poland.

6- Ndarathi, C.M., D'souza, C., Waghela, S., 1991, The prevalance of leptospirosis in Maasai livestock in Kenya. Bulletin of animal health and production in Africa. 39- (4) 419-421 [En, fr, 14 ref.] Veterinary Research laboratory, P.O. Kabete, Kenya.

7- The Merck veterinary manual, 1991. seventh edition. pp. 352-356.

8- Zamora, J., Riedmann, S., Montecinos, M.I. Cabezas, X., 1991, Isolation in Chile of *Leptospira interrogans* serovars hardjo and Kennewicki from apparently healthy cattle. Archivos de Medicina veterinaria, 23 (2) 131 -135 [Es, en, 26 ref.] facultad ciencias veterinarias. Universidad Austral, Casilla 567, Valdivia, Chile.

تامپون دار در محیط کشت صورت پذیرفت که در ۲ نمونه ادرار تامپون دار، اسپروکت *L.i. grippotyphosa* رشد کرد. تحقیقات Kocik در سال ۱۹۹۲ در کشور لهستان در مورد شناسائی لپتوسپیروز گاو به دو روش سرولوژیک و کشت ادرار نشان داد که از نظر سرولوژیک ۲۹٪ گاوها به لپتوسپیروز مبتلا می باشند در حالی که در آزمایشات باکتریولوژیک فقط ۵ نمونه از نظر وجود لپتوسپیرو مثبت بودند به طوری که در نتایج طرح در اورمییه نیز مشخص گردید ۶۳٪/۵ سرم دامهای مشکوک و ۴۳٪/۷ سرم دامهای در تماس با بیماران از نظر نمونه خون تامپون دار و ادرار تامپون دار فقط ۲ مورد از نظر کشت باکتریولوژیک مثبت بودند.

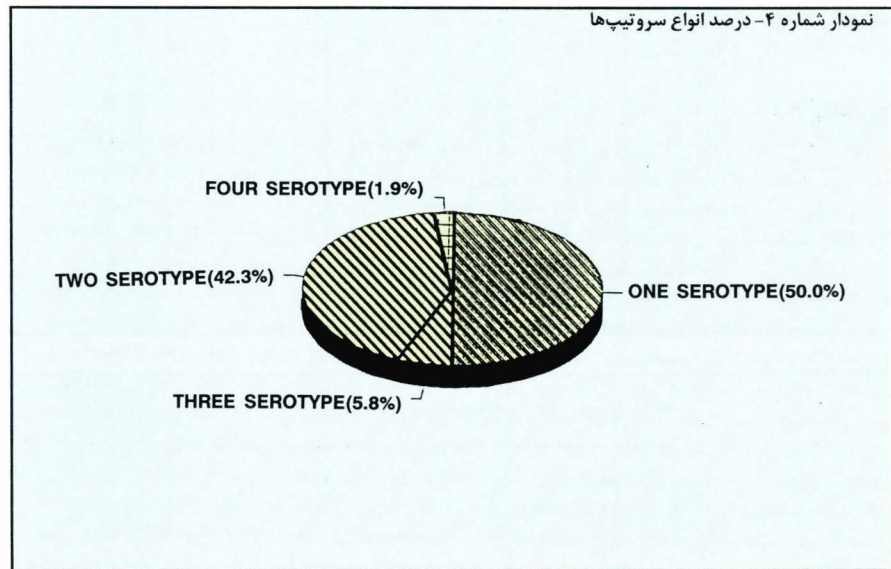
لذا می توان بیان کرد که آزمایشات سرولوژیک در تشخیص بیماری لپتوسپیروز در مقایسه با آزمایشات کشت اسپروکت، نتایج مطمئن تری را دارا می باشد و شاید بدین علت باشد که یکی از عوامل زیر در عدم رشد اسپروکت در کشت میکربی دخیل باشد.

- ۱- عدم تهیه به موقع خون تامپون دار (خون تامپون دار باید در دوره Leptospiemia تهیه گردد).
 - ۲- عدم تهیه به موقع ادرار تامپون دار (ادرار تامپون دار باید در دوره Leptospiuria تهیه گردد).
 - ۳- مناسب نبودن محیط تامپون (از نظر دما، pH و...)
- برای محافظت از اسپروکت.

حاکمی از وجود اسپروکت های *L.i. grippotyphosa* و *L.i. copenhageni* در گاوهای آن منطقه است، علاوه بر این، تحقیقات سرولوژیک در شمال لهستان در سال ۱۹۹۲ وجود سروتیپهای *sejroe, hardjo, grippotyphosa, bataviae, tarassovi, cynopteri* و *celledoni* (Kocik, T. 1992) را در گاو و محرز نمود که پراکندگی گسترده سروتیپهای گوناگون (*L.i. interrogans*) را در مناطق مختلف نشان می دهد که انجام مطالعات مشابهی را در هر منطقه خاطر نشان می سازد. نتایج سرولوژیک طرح انجام شده در شهرستان ارومییه نیز مؤید همین موضوع می باشد که سروتیپها از تنوع بیشتری برخوردارند و نتایج حاصله از آزمایشات سرولوژیک (MAT) وجود ۶ سروتیپ، *L.i. grippotyphosa, L.i. icterohemorrhagia, L.i. canicola, L.i. hardjo, L.i. pomona* و *L.i. copenhageni* را در گاوهای حومه شهرستان ارومییه نشان می دهد.

تحلیل و بررسی نتایج به دست آمده نشان می دهد سروتیپ *L.i. grippotyphosa* در منطقه ارومییه شایع ترین عامل اتیولوژیک بیماری لپتوسپیروز گاوی محسوب می گردد و در ۷۳٪ نمونه های سرمی تیترا مثبت، اسپروکت *L.i. grippotyphosa* شناسائی شده است. لازم به ذکر است علاوه بر آزمایشات سرولوژیک (MAT)، کشت نمونه های خون تامپون دار و ادرار

نمودار شماره ۴- درصد انواع سروتیپها



جدول شماره ۱- تعداد و درصد سرم دامهای مشکوک و دامهای در تماس با لپتوسپیرو.

نوع نمونه	تعداد کل نمونه سرم	تعداد نمونه های مثبت	درصد سرمهای تیترا مثبت	تعداد نمونه های منفی
سرم دامهای مشکوک	۷۱	۴۵	۶۳/۵	۲۶
سرم دامهای در تماس	۱۶	۷	۴۳/۷	۹

جدول شماره ۲- نمایش ارقام سروتیپهای مختلف در سرمهای تیترا مثبت

نوع سروتیپ	<i>L.i. copen</i>	<i>L.i. icter</i>	<i>L.i. ch</i>	<i>L.i. sh</i>	<i>L.i. pomona</i>	<i>L.i. grip</i>
نمونه های سرمی						
نمونه های مثبت	۵/۷	۱۲/۴	۱۹/۶	۲۳	۲۵	۷۳
کل نمونه ها	۲۴	۸	۱۱/۵	۱۳/۷	۱۴/۹	۴۲/۶