تحقیقی

کاربرد روش میکروآگلوتیناسیون در تعیین سروواریهای لپتوسپیرا

دکتر پژواک خاکی[۱]، زهرا روحی[۲]، دکتر سهیلا مرادی بیدهندی*[۱]

۱- استادیار، آزمایشگاه رفرانس لپتوسپیرا، بخش میکروب شناسی، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج.

۲- کارشناس ارشد میکروب شناسی، آزمایشگاه رفرانس لپتوسپیرا، بخش میکروب شناسی، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج.

چکیده

زمینه و هدف : *لپتوسپیروزیس بیماری عفونی و زئونوزی است که توسط باکتری لپتوسپیرا ایجاد شده و به صورت مستقیم یا غیرمستقیم از حیوان به انسان انتقال می‌یابد. از آنجا که تشخیص سریع این بیماری می‌تواند در کنترل بیماری کمک شایانی نماید؛ این مطالعه به منظور تعیین سروواریهای شایع لپتوسپیرا با روش میکروآگلوتیناسیون (Microscopic Agglutination Test) در نمونه‌های سرمی انسان و دام انجام شد.*

روش بررسی : *این مطالعه توصیفی روی ۱۷۵ نمونه سرم دامی و ٦٧ نمونه سرم انسانی مشکوک به لپتوسپیروزیس جمع آوری شده از استان‌های اردبیل، هرمزگان، گیلان، مازندران و قم طی سال‌های ۹۱-۱۳۹۰ با استفاده از ۲۰ آنتی‌ژن لپتوسپیرای زنده انجام شد.*

یافته‌ها : *۹۹ نمونه دامی (٥٦/٥ درصد) و ۳۱ نمونه انسانی (٤٦/٢درصد) دارای عیار آنتی‌بادی علیه لپتوسپیرا بودند. از بین ۲۰ سروووار بررسی شده؛ شایع‌ترین سروووار لپتوسپیرا در نمونه‌های دامی سرجو هارجو (serjoe hardjo) (٦١/٩درصد) و در نمونه‌های انسانی سرجو سرجو (serjoe serjoe) (۲۳ درصد) بود. از میان ٦٧ نمونه انسانی، ۵۰ درصد را کشاورزان تشکیل دادند که در گروه سنی ٤٠-۲۰ سالگی قرار داشتند. علل آلودگی شامل تماس با آب آلوده (٦١/١ درصد)، تماس با خون آلوده (۲۸/۳ درصد) و سایر علل (١٠/٤ درصد) تعیین شدند. در تمامی نمونه‌های دامی و انسانی تیتر سرمی ۱/٤۰۰ بالاترین فراوانی (١٩/٤درصد) را نشان داد.*

نتیجه‌گیری : *شایع‌ترین سروووار لپتوسپیرا نمونه‌های دامی و انسانی با روش میکروآگلوتیناسیون به ترتیب serjoe hardjo و serjoe serjoe تعیین شدند.*

کلید واژه‌ها : *لپتوسپیرا ، لپتوسپیروزیس ، میکروآگلوتیناسیون ، serjoe hardjo ، serjoe serjoe ، کشاورز*

* نویسنده مسؤول : دکتر سهیلا مرادی بیدهندی ، پست الکترونیکی s.bidhendi@rvsri.ac.ir

نشانی : کرج، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، آزمایشگاه رفرانس لپتوسپیرا، بخش میکروب شناسی، کدپستی ۳۱۹۷٦۱۹۷۵۱

تلفن ۳٤٥۷۰۰۳۸-۰۲٦۳ ، نمابر ۳٤٥٥۲۱۹٤

وصول مقاله : ۹۲/٤/۱۰ ، اصلاح نهایی : ۹۲/۷/۱۵ ، پذیرش مقاله : ۹۲/۷/۲۱

مقدمه

لپتوسپیروزیس به‌عنوان یکی از بیماری‌های زئونوز شایع در جهان از سوی سازمان بهداشت جهانی مطرح است و در اکثر مناطق جهان دیده می‌شود. شیوع این بیماری در مناطق گرمسیر و نیمه‌گرمسیر و مناطقی با بارش زیاد باران بیشتر است (۱و۲). بیماری عمدتاً در تابستان (اواخر بهار) و پاییز رخ می‌دهد (۳). گونه‌های متعددی از حیوانات اهلی و وحشی به‌عنوان میزبان طبیعی هستند که می‌توانند عامل این بیماری را از طریق ادرار منتشر کنند. انتقال لپتوسپیروزیس در پی تماس مستقیم یا غیر مستقیم آن با ادرار، خون، بافت حیوان آلوده با لپتوسپیراهای بیماری‌زا رخ می‌دهد و انسان از راه‌های مختلف مانند باتلاق، شنا در کانال‌های آلوده، دریاچه و رودخانه به این بیماری مبتلا می شود. از آنجاکه این بیماری یک بیماری شغلی است؛ می‌تواند دامداران، شالیکاران و کارکنان کشتارگاه‌ها را مبتلا نماید. شدت این بیماری بستگی به حدت باکتری، سروتیپ آن و مقاومت بدن میزبان دارد و از شکل خفیف تا حاد دیده می‌شود. لپتوسپیروزیس در ایران بیشتر در نواحی شمالی شایع است (۶-۳). علایم بالینی بیماری در دام به‌صورت کسالت و افت شیر دیده می‌شود و در انسان علایم از سرماخوردگی ساده تا خطرناک کشنده بروز می‌کند. میزبان‌های ناقل باکتری را از طریق ادرار، هفته‌ها تا ماه ها و گاهی بیشتر از آن به خارج از بدن دفع می‌کنند. پاسخ سرولوژیکی معمولاً ۷-۵ روز و گاهی تا ۱۰ روز و حتی بیشتر پس از بروز بیماری ایجاد می‌گردد (۲و۷).

لپتوسپیروزیس بیماری زئونوز شایع در مناطق دارای آب و هوای گرم و مرطوب است (۴و۸). عفونت‌های انسانی در مناطقی که

جدول ۱ : سروواراهای استاندارد لپتوسپیرای مورد استفاده در آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی

ردیف	سروگروپ	سروار	استرین
۱	Australis	australis	Ballico
۲	Autumnalis	autumnalis	akiyami A
۳	Ballum	castellonts	casrellon
٤	Bataviae	baraviae	vantienen
٥	Canicola	canicola	hond utrech IV
٦	Canicola	canicola	Chiffon
۷	Cynopteri	cynopteri	3522 C
۸	Grippotyphosa	grippotyphosa	moskova V
۹	Hebdomadis	hebdomatis	hebdomatis
۱۰	Sejroe	hardjo	hardjo(bovis)21/8/90
۱۱	Icterohaemorragiae	copenhageni	wijnberk
۱۲	Icterohaemorragia	icterohaemorragia	Verdun
۱۳	Javanica	javanica	veldrat botavia 46
۱٤	Panama	panama	cz 214 k
۱٥	Pomona	pomona	pomona
۱٦	Pyrogenes	pyrogenes	salinem
۱۷	Sejroe	sejroe	M 84
۱۸	Sejroe	wolffi	3705
۱۹	Semaranga	patoc	Patoc 1
۲۰	Tarassovi	tarassovi	Mitis johnson

بارندگی فراوان و آب‌های سطحی راکد دارند؛ رخ می‌دهد و بدین جهت بیماری در مناطق نزدیک به خط استوا بسیار متداول است. درجه حرارت و رطوبت دو عامل مهم در رشد و بقاء این باکتری است. به طوری که در آب و هوای معتدل و گرمسیری با بارندگی زیاد، مدت زمان و فرصت بیشتری برای ادامه حیات و تکثیر و انتقال به سایر دام‌ها پیدا می‌کند (۹). از آنجایی که کشت لپتوسپیرا وقت‌گیر است (۸) و تشخیص سریع این بیماری می‌تواند در کنترل و پیشگیری از بیماری کمک شایانی نماید؛ لذا استفاده از روش‌های سرولوژیکی می‌تواند موثر باشد. این مطالعه به منظور تعیین سروواراهای شایع لپتوسپیرا با روش میکروآگلوتیناسیون (Microscopic Agglutination Test) در نمونه‌های سرمی انسان و دام مشکوک به لپتوسپیروزیس در پنج استان کشور انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی روی ۱۷۵ نمونه سرم دامی و ۶۷ نمونه سرم انسانی مشکوک به لپتوسپیروزیس جمع آوری شده از استان‌های اردبیل، هرمزگان، گیلان، مازندران و قم طی سال‌های ۹۱-۱۳۹۰ با استفاده از ۲۰ آنتی‌ژن لپتوسپیرای زنده انجام شد.

نمونه‌های سرم در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریوفوژ و در شرایط استاندارد به آزمایشگاه رفرانس لپتوسپیرا مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی کرج ارسال شدند و تا زمان انجام آزمایش در فریزر با دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری گردید.

بیست آنتی‌ژن لپتوسپیرای زنده بر روی محیط اختصاصی EMJH حاوی سرم خرگوش و مکمل‌های غذایی کشت داده شدند. کشت‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد پس از ۷ تا ۱۰ روز با میکروسکوپ زمینه سیاه بررسی شدند (۱۰). سروواراهای استاندارد مورد استفاده در این مطالعه در جدول یک آمده است.

میکروآگلوتیناسیون طبق استاندارد بین‌المللی انجام شد. به‌طور خلاصه از نمونه‌های سرم رقت‌های ۱/۲۰۰، ۱/۴۰۰، ۱/۸۰۰، ۱/۱۶۰۰، ۱/۳۲۰۰، ۱/۶۴۰۰ و ۱/۱۲۸۰۰ تهیه شد. سپس سرم نمونه‌های مورد آزمایش با ۲۰ سروار زنده لپتوسپیرا موجود در آزمایشگاه رفرانس لپتوسپیرا بخش میکروب‌شناسی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی کرج به‌طور مجزا مخلوط شده و میکروآگلوتیناسیون در زیر میکروسکوپ زمینه تاریک مورد بررسی قرار گرفت. در صورتی که بیش از ۵۰درصد لپتوسپیراها آگلوتینه شدند؛ آن رقت را به عنوان مثبت تلقی کردیم و تیتر را به‌دست آوریم. در صورتی که آگلوتیناسیونی در لام مشاهده نشد و لپتوسپیراها زنده و فعال بودند؛ آن را منفی گزارش نمودیم (۲). در پرسشنامه‌ای علایمی توسط پزشک شامل تب، لرز، زردی و میالژی، مشکلات ریوی، تهوع و استفراغ، ترس از نور، تورم و پرخونی غشای ملتحمه چشم به صورت دوطرفه، جوش‌های قرمز پوستی، بی‌اشتهایی، تهوع و استفراغ ثبت شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-20 توصیف شدند.

یافته‌ها

فراوانی نمونه‌های سرمی دام و انسان به تفکیک استان مورد مطالعه در جدول ۲ آمده است.

۹۹ نمونه دامی (۵۶/۵ درصد) و ۳۱ نمونه انسانی (۴۶/۲درصد) دارای عیار آنتی‌بادی علیه لپتوسپیرا بودند.

از میان ۶۷ نمونه انسانی، ۵۰ درصد را کشاورزان تشکیل دادند که در گروه سنی ۴۰-۲۰ سالگی قرار داشتند.

جدول ۲ : فراوانی نمونه‌های سرمی دامی و انسانی مشکوک به لپتوسپیروزیس جمع‌آوری شده از پنج استان کشور

استان	نمونه دامی تعداد (درصد)	نمونه انسانی تعداد (درصد)
گیلان	۲۸ (۱۶)	۴۱ (۶۱/۱۹)
مازندران	۳۰ (۱۷/۱۴)	۲۶ (۳۸/۸)
اردبیل	۴۲ (۲۴)	۰ (۰)
قم	۴۰ (۲۲/۸۵)	۰ (۰)
هرمزگان	۳۵ (۲۰)	۰ (۰)

جدول ۳ : توزیع فراوانی موارد منفی و مثبت آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی نمونه‌های سرمی دامی و انسانی مشکوک به لپتوسپیروزیس

نمونه	منفی تعداد (درصد)	تعداد سروار همراه با هم و مثبت ۱ تعداد (درصد)	۲ تعداد (درصد)	۳ تعداد (درصد)
انسانی	۳۶ (۵۳/۷)	۳۱ (۴۶/۲)	۰ (۰)	۰ (۰)
دامی	۷۶ (۴۳/۴)	۵۴ (۳۰/۸)	۳۶ (۲۰/۵)	۹ (۵/۱)

جدول ۴ : توزیع فراوانی تیتر آنتی‌بادی در نمونه‌های دامی و انسانی مشکوک به لپتوسپیروزیس

تیتر	نمونه دامی تعداد (درصد)	نمونه انسانی تعداد (درصد)
۱/۲۰۰	۱۲ (۶/۸)	۹ (۱۳/۴)
۱/۴۰۰	۳۴ (۱۹/۴)	۱۳ (۱۹/۴)
۱/۸۰۰	۲۹ (۱۶/۵)	۶ (۸/۹)
۱/۱۶۰۰	۲۲ (۱۲/۵)	۰ (۰)
۱/۳۲۰۰	۴ (۲/۲)	۰ (۰)
۱/۶۴۰۰	۱۱ (۶/۲)	۰ (۰)
۱/۱۲۸۰۰	۱۰ (۵/۷)	۰ (۰)

علل آلودگی شامل تماس با آب آلوده (۶۱/۱ درصد)، تماس با خون آلوده (۲۸/۳ درصد) و سایر علل (۱۰/۴ درصد) تعیین شدند.

بیشترین علایم مشاهده شده در افراد مورد بررسی شامل تب در ۵۸ نفر (۸۶/۵ درصد)، لرز در ۵۵ نفر (۸۲ درصد)، زردی در ۴۰ نفر (۵۹/۷ درصد) و میالژی در ۱۲ نفر (۱۷/۹ درصد) بود. همچنین دوره کمون بیماری از زمان ورود باکتری به بدن تا ظهور علایم ۸ روز به دست آمد.

با توجه به تعداد موارد مثبت آزمایش میکروآگلوتیناسیون، ۴۵ مورد از نمونه‌های دامی با بیش از یک سروار دارای عیار آنتی‌بادی علیه لپتوسپیرا بودند. در صورتی که در مورد نمونه‌های انسانی این مورد مشاهده نشد (جدول ۳).

در میان نمونه‌های، تیترهای آنتی‌بادی از ۱/۲۰۰ تا ۱/۱۲۸۰۰ و در میان نمونه‌های انسانی، تیترهای آنتی‌بادی از ۱/۲۰۰ تا ۱/۸۰۰ به‌دست آمد. در تمامی نمونه‌های دامی و انسانی تیتر سرمی ۱/۴۰۰ بالاترین فراوانی (۱۹/۴ درصد) را داشت. بیشترین تیترها به‌ترتیب در نمونه‌های دامی ۱/۴۰۰، ۱/۸۰۰، ۱/۱۶۰۰، ۱/۲۰۰، ۱/۶۴۰۰ و ۱/۱۲۸۰۰ و در نمونه‌های انسانی ۱/۴۰۰، ۱/۲۰۰ و ۱/۸۰۰ بود (جدول ۴).

در نمونه‌های دامی استان اردبیل شایع‌ترین سروار *Serjoe hardjo* (۶۱/۹ درصد) به دست آمد و سروار *Icterohemorrhagie* در نمونه‌های دامی استان گیلان (۵۷/۱ درصد)، هرمزگان (۴۵/۷ درصد)، قم (۲۰درصد) و مازندران (۲۰درصد) شایع‌ترین سروار را به خود اختصاص داد. در نمونه‌های انسانی سروار *Serjoe serjoe* در استان مازندران (۲۳درصد) و سروار *Icterohemorrhagie* در استان گیلان (۱۲/۱ درصد) شایع‌ترین سروارها تعیین شدند (جدول ۵).

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه شایع‌ترین سروار لپتوسپیرا نمونه‌های دامی و انسانی به ترتیب *serjoe hardjo* و *serjoe serjoe* تعیین شدند.

در مطالعه مشابهی توسط طالب‌خان و همکاران در سال ۱۳۷۵ شیوع سرمی لپتوسپیروز در مشهد ۳۰/۷درصد گزارش شد (۱۱). این میزان در مطالعه فیروزی و وندیوسفی در سال ۱۳۷۹ در شیراز ۳۲ درصد (۱۲) و در مطالعه عبداله‌پور و همکاران در سال ۱۳۸۸ در استان گیلان ۲۵/۸ درصد (۱۳) گزارش شده است. در مطالعه انجام شده روی ۱۳۰ نمونه سرم دامی در شهرستان ارومیه در سال‌های ۷۳-۱۳۷۲، ۳۲/۵درصد نمونه‌های سرمی دامی، دارای عیار آنتی‌بادی علیه لپتوسپیرا بودند (۱۴). در مطالعه وندیوسفی و همکاران در سال ۱۳۷۳ روی ۹۳۲ نمونه سرم دامی، ۷۱۸ مورد مثبت گزارش شد. بالاترین تیتر حاصله ۱/۸۰۰ و کمترین ۱/۳۲۰۰ عنوان گردید. همچنین بیشترین تیتر حاصله، ایکتروهموراژیه گزارش گردید (۱۵). در مطالعه سلطانی و همکاران در سال ۱۳۹۱ در استان زنجان از مجموع ۱۳۵ نمونه سرم دامی، ۶۰ مورد (۴۴/۴درصد) دارای عیار آنتی‌بادی علیه لپتوسپیرا بودند. همچنین سروتیپ غالب سرجو هارجو و بیشترین تیتر ۱/۲۰۰ (۵۴/۶درصد) گزارش شد (۱۶). سخایی و عبداله‌پور در سال ۱۳۹۰ از ۲۸۵ نمونه سرم دامی استان‌های شمال شرقی کشور، ۴۵ مورد (۱۵/۷۹درصد) را مثبت و سروار ایکتروهموراژیه را نیز سروار غالب گزارش کردند (۱۷). در مطالعه حاضر نیز ۴۷/۱درصد نمونه‌های سرمی دامی، دارای عیار آنتی‌بادی علیه لپتوسپیرا بودند. در مطالعه سخایی و همکاران در سال ۱۳۸۳ روی ۳۵۵ نمونه سرم دامی، سروار ایکتروهموراژیه شایع‌ترین سروار در دام‌ها گزارش شد (۵). در مطالعه حاضر نیز سروار شایع دام‌ها ایکتروهموراژیه (۳۳/۷درصد) شناخته شد. در

جدول ۵ : فراوانی نمونه‌های سرمی دامی و انسانی مشکوک به لپتوسپیروزیس براساس سروواراهای غالب به تفکیک استان‌ها

نمونه	استان	Autumnalis تعداد (درصد)	Canicola تعداد (درصد)	Grippotyphosa تعداد (درصد)	Icterohaemorrhagiae تعداد (درصد)	Pomona تعداد (درصد)	Serjoe hardjo تعداد (درصد)	Serjoe serjoe تعداد (درصد)
دامی	گیلان	۵ (۱۷/۸)	۱ (۳/۵)	٦ (۲۱/٤)	۸ (۵۷/۱)	۰ (۰)	١٤ (۵۰)	۵ (۱۷/۸)
	مازندران	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	٦ (۲۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
	اردبیل	۱ (۲/۳)	۳ (۷/۱)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۲٦ (٦۱/۹)	۰ (۰)
	قم	۳ (۷/۵)	۱ (۲/۵)	۰ (۰)	۸ (۲۰)	۱ (۲/۵)	۲ (۵)	۰ (۰)
	هرمزگان	۰ (۰)	۱ (۲/۸)	۱ (۲/۸)	١٦ (٤۵/۷)	۰ (۰)	٦ (۱۷/۱)	۰ (۰)
انسانی	گیلان	۱ (۲/٤)	۱ (۲/٤)	۱ (۲/٤)	۵ (۱۲/۱)	۱ (۲/٤)	۲ (٤/۸)	۲ (٤/۸)
	مازندران	۰ (۰)	۰ (۰)	۲ (۷/٦)	۳ (۱۱/۵)	۲ (۷/٦)	۲ (۷/٦)	٦ (۲۳/۰۷)

تمامی نمونه‌های دامی و انسانی تیتر سرمی ۱/۴۰۰ بالاترین فراوانی (۱۹/۴ درصد) را داشت و به‌ترتیب بیشترین تیترها در نمونه‌های دامی ۱/۴۰۰، ۱/۸۰۰، ۱/۱۶۰۰، ۱/۲۰۰، ۱/۶۴۰۰ و ۱/۱۲۸۰۰ و در نمونه‌های انسانی ۱/۴۰۰، ۱/۲۰۰ و ۱/۸۰۰ تعیین شد. در مطالعه سرولوژیکی Levett در سال ۲۰۰۰ در فرانسه روی نمونه‌های سرمی انسانی مشکوک به لپتوسپیروزیس و ۲۲ سروار لپتوسپیرا؛ ۵۱ مورد (۴۸درصد) دارای تیتر مثبت با عیار بالاتر از ۱/۸۰۰ بودند (۱۸). در مطالعه حاضر بالاترین درصد عیار آنتی‌بادی مشاهده شده در میان نمونه‌های انسانی ۱۷/۴ درصد (عیار ۱/۴۰۰) مربوط به سروار *Serjoe serjoe* تعیین شد.

لپتوسپیروز به عنوان یک بیماری شغلی پذیرفته شده و در مشاغلی که با حیوانات و آب‌های سطحی سر و کار دارند؛ بروز بیشتری دارد (۱۹و۲۰). در مطالعه Pacciarini و همکاران در نیجریه در سال ۱۹۹۱ روی ۷۱۰ نمونه سرم انسانی جمع‌آوری شده؛ ۱۱۲ مورد مربوط به کارکنان کشتارگاه‌ها، ۱۴۹ مورد مربوط به کارکنان بیمارستان‌ها، ۴۲۴ مورد مربوط به کشاورزان و ۲۵ مورد مربوط به سایر مشاغل بود و نتایج نشان داد که کشاورزان بیشتر از سایر مشاغل در معرض خطر هستند (۲۱). مطالعه Nájera در کلمبیا نشان داد که شغل کشاورزی یک عامل خطر قوی است (۲۲). در مطالعه هنرمند و همکاران در سال ۱۳۸۲ در استان گیلان، ۱۷۳ مورد از بین موارد تایید شده بیماری، کشاورز بودند (۲۳). در مطالعه بابامحمودی و همکاران در سال۱۳۸۵ در ساری و قائم شهر، ۸۶/۱ درصد از افراد مورد مطالعه کشاورز بودند و میانگین سنی آنها ۳۴ سال بود (۲۴). در مطالعه هنرمند و همکاران در سال ۱۳۸۲ در استان گیلان، ۵۸درصد موارد بیماری در سنین ۲۰ تا ۵۰ سالگی گزارش شدند. همچنین بیشتر موارد بیماری در مردان مشاهده شد (۲۳). در مطالعه Chumakov در روسیه نیز بیشتر موارد بیماری در مردان و در سنین ۲۰ تا ۵۰ سالگی مشاهده شد (۲۵). در مطالعه حاضر نیز ۵۰درصد افراد کشاورز بودند و ۳۸/۹درصد موارد مثبت میانگین سنی ۳۰ سال داشتند.

سلطانی و همکاران در سال ۱۳۹۱ روی ۹۸ نمونه سرم انسانی جمع‌آوری شده از کارکنان کشتارگاه استان زنجان از نظر تعیین عیار آنتی‌بادی مطالعه کردند و ۳۴ مورد (۳۴/۷درصد) مثبت و شایع‌ترین سروار سرجو هارجو گزارش گردید (۲۶). مطالعه منصورقناعی و همکاران در سال ۱۳۸۷ روی ۴۶۵ فرد مشکوک به لپتوسپیروزیس، ۱۷۷ مورد مثبت با میانگین سنی ۲۸ سال گزارش شد. ۷۸درصد آنها کشاورز بودند و سروتیپ غالب ایکتروهموراژیه بود (۲۷). در مطالعه اسمعیلی و همکاران در سال ۱۳۸۸ از ۱۰۲ بیمار مورد بررسی، ۴۶/۱درصد کشاورز با میانگین سنی ۳۱/۵ سال بودند. همچنین آنها شایع‌ترین علایم را تب (۷۴/۵درصد)، میالژی (۶۸/۶درصد) و زردی (۴۷/۱درصد) اعلام کردند (۲۸). در مطالعه گلشا و همکاران در گرگان در سال ۱۳۸۳ از بین ۲۰ بیمار مشکوک به لپتوسپیروز ۱۲ مورد توسط تست میکروآگلوتینیشن مثبت تلقی شدند. همچنین همه بیماران دارای علایم تب و لرز بودند (۲۹). در مطالعه حاضر از بین افراد مورد بررسی ۸۱درصد تب، ۶۱/۹ درصد لرز، ۴۷/۶ درصد زردی و ۱۹ درصد میالژی داشتند که در بررسی توزیع شیوع افراد سرم مثبت براساس علایم بیماری نیز تب با ۷۲/۲ درصد شایع‌ترین علامت شناخته شد.

در مطالعه Perret و همکاران در شیلی، ۷۰درصد بیماران مبتلا سابقه تماس با آب‌های سطحی داشتند (۳۰). در مطالعه هنرمند و همکاران۳۴/۹درصد از بیماران سابقه تماس با آب‌های سطحی داشتند (۲۳). مطالعه انجام شده در سال ۱۹۹۶ در کاستاریکا روی موارد انسانی نشان داد که ۲۶ مورد دارای عیار مثبت بودند و عامل بیماری از راه خوردن آب آلوده رودخانه منتقل شده بود (۴). در مطالعه حاضر نیز ۵۰ درصد از نمونه‌های انسانی با عیار مثبت، عامل بیماری را از طریق مصرف یا تماس با آب آلوده دریافت کرده بودند. این موضوع موید آن است که مهم‌ترین راه انتقال لپتوسپیروز به‌دلیل تماس با آب آلوده است و این بیماری یک بیماری شغلی است که در اثر تماس مستقیم و غیرمستقیم افراد با عامل بیماری ایجاد می‌شود.

کاهش شیوع سرمی لپتوسپیروز با کاهش ریزش باران و افزایش سطح بهداشت مرتبط است (۵). مطالعه Tangkanakul و همکاران در تایلند نشان داد که بیشترین موارد بروز بیماری در اوج فصل بارندگی (اواخر تابستان) است (۳۱). مطالعه Herrmann-Storck و

همکاران نشان داد که اغلب موارد بیماری در فصل بارندگی به‌وقوع می‌پیوندد (۳۲). گزارشات حاکی از آن است که در کشور تایلند از سال ۱۹۸۲ تا ۱۹۹۵ هر ساله ۵۵ مورد بیماری لپتوسپیروز گزارش شده است که عدم کنترل و پیشگیری از انتقال بیماری در سال‌های بعد منجر به افزایش چشمگیری از بیماری گردید. به‌طوری که در سال ۱۹۹۶ تعداد مبتلایان ۳۹۸ مورد و در سال‌های ۲۰۰۰-۱۹۹۷، ۱۴۲۸۶ نفر گزارش گردید. میزان بالای آلودگی بیانگر این مطلب است که کشور تایلند به دلیل ریزش باران‌های سیل‌آسا، جاری شدن سیل، آلوده بودن خاک و آب‌های جاری مستعد ابتلا افراد به این بیماری و گسترش بیماری است (۳۳). در مطالعه حاضر بیشترین موارد آلوده از مناطق پر باران کشور مانند استان گیلان و مازندران بود.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه با استفاده از روش میکروآگلوتیناسیون، شایع‌ترین سروار لپتوسپیرا نمونه‌های دامی و انسانی به ترتیب *serjoe hardjo* و *serjoe* تعیین شدند. با توجه به این که آزمایش میکروآگلوتیناسیون 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 به عنوان روشی برای بررسی شیوع بیماری، سرووارهای غالب و در گردش بیماری مورد استفاده قرار گیرد. همچنین داده ها نشان داد که عفونت لپتوسپیرایی در سطح کشور و به‌ویژه در شمال کشور به‌طور فعال وجود دارد و خطر بالقوه‌ای برای بهداشت جامعه به‌شمار می‌رود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۸۷۰۳۱-۱۸-۱۸-۲) مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی بود. بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی و همکاران بخش میکروب‌شناسی آن مؤسسه سپاسگزاری می‌نماییم.

References

1. Brooks G, Carroll KC, Butel J, Morse S. [Jawetz Melnick and Adelbergs Medical Microbiology]. Translate by Rahimi MK, Athari A, et al. 23rd. Tehran: Aeej Publication. 2005; pp: 538-41. [Persian]

2. World Health Organization. [Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control]. Translate by Khaki P, Moradi Bidhendi S, Moradi Garavand M. 1st. Tehran: Alavi Publication. 2003; pp: 1-2, 11-12, 17, 37. [Persian]

3. Zavitsanou A, Babatsikou F. Leptospirosis: epidemiology and preventive measure. Health Sci J. 2008; 2(2): 75-82.

4. Trevejo RT, Rigau-Pérez JG, Ashford DA, McClure EM, Jarquín-González C, Amador JJ, et al. Epidemic leptospirosis associated with pulmonary hemorrhage-Nicaragua, 1995. J Infect Dis. 1998 Nov;178(5):1457-63.

5. Sakhaee E, Abdollahpour Gh, Bolourchi M, Sattari Tabrizi S. Comparison between microscopic agglutination test (MAT) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of leptospiral antibodies in cattle. Comp Clin Path. 2010; 19(1):5-9.

6. Asuthkar S, Velineni S, Stadlmann J, Altmann F, Sritharan M. Expression and Characterization of an Iron-Regulated Hemin-Binding Protein, HbpA, from Leptospira interrogans Serovar Lai. Infect Immun. Sep 2007; 75(9): 4582-91.

7. Burrie AR. Leptospirosis: an important zoonotic diseasesis. Technplpgy and Education Topics in Applied Microbiology and Biotechnology. 2010; 22:687-93.

8. Honarmand HR, Khayat L, Mansour Ghanaei F, Rahbar Taromsari M. [Isolation of pathogenic leptospires from blood samples of patients by PCR- RFLP method]. J Gorgan Uni Med Sci. 2010; 12(1):70-79. [Article in Persian]

9. Adibfar P. [Medical Microbiology]. 1st. Tehran: Noredanesh Publication. 1999; pp: 683-700, 729-39. [Persian]

10. Leptospirosis. OIE Terrestrial Manual. Chapter 2.1.9. 2008; pp: 251-65. Avialable at:http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.09_LEPTO.pdf

11. Garooci Talebkhan M ,Vandeyusefy J, Famileghadakchi H, Norouzian A. [Seroepidemiology leptospiral contamination in dairy cattle farms around Mashhad staff]. J Vet Res. 2003; 58(1): 89-94. [Article in Persian]

12. Firouzi R, Vandyousefi J. [A serological survey on bovine leptospirosis in Shiraz, Iran]. J Vet Res. 2000;1(2):118-23. [Article in Persian]

13. Abdollahpour Gh, Shafighi T, Sattari Tabrizi S. Serodiagnosis of Leptospirosis in cattle in North of Iran, Gilan. International Journal of Veterinary Research, University of Tehran. 2009; 3(1):7-10.

14. Jafari SM, Vand Yousefi J, Azarvandi A. [Evaluation of clinically suspected leptospirosis and identifying strains involved in bovine leptospira in the uromia city]. Pajouhesh va Sazandeghi. 1997; 34:120-22. [Article in Persian]

15. Vand Yousefi J, Moradi Bidhendi S, Ahourai P. [New finding about leptospirosis in Razi Institute]. Pajouhesh va Sazandeghi. 1995; 25:72-5. [Article in Persian]

16. Majd Soltani N, Khodaverdi Darian E, Dezhbord M, Moradi Bidhendi S, Khaki P. [Sero-epidemiology of Leptospirosis in Livestock Slaughterhouses]. Iranian J Infect Dis Trop Med. 2012; 17(57):53-8. [Article in Persian]

17. Sakhaee E, Abdollahpour GR. Detection of leptospiral antibodies by microscopic agglutination test in north-east of Iran. Asian Pac J Trop Biomed. 2011 Jun; 1(3): 227-9.

18. Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev. 2001 Apr; 14(2):296-326.

19. Honarmand HR, Mansour Ghanaei F, Heidarzadeh A, Asmar M. [Isolation and Serotyping of endemic leptospires of eastern part of flat area of Guilan province, Iran]. J Gorgan Uni Med Sci. 2009; 11(3):53-59. [Article in Persian]

20. Waitkins SA. Leptospirosis as an occupational disease. Br J Ind Med. 1986 Nov; 43(11): 721-5.

21. Pacciarini ML, Savio ML, Tagliabue S, Rossi C. Repetitive sequences cloned from Leptospira interrogans serovar hardjo genotype hardjoprajitno and their application to serovar identification. J Clin Microbiol. 1992 May; 30(5): 1243-9.

22. Nájera S, Alvis N, Babilonia D, Alvarez L, Máttar S.

[Occupational leptospirosis in a Colombian Caribbean area]. Salud Publica Mex. 2005 May-Jun;47(3):240-4. [Article in Spanish]

23. Honarmand HR, Mansour-Ghanaee F, Eshraghi S, Khorramizade MR, Abdollahpour GhR. [The epidemiology of leptospirosis in Guilan provice - 2003]. J Gorgan Uni Med Sci. 2005;7(2):52-56. [Article in Persian]

24. Babamahmodi F, Motamed N, Mahdavi M, Nickhah F, Qavi Bonyeh K. [Seroepidemiological study of leptospirosis in Ghaemshahr Mazandaran province-Iran, Sept-Oct 2004]. J Mazandaran Univ Med Sci. 2006; 16(53):51-56. [Article in Persian]

25. Chumakov ME. [Leptospirosis in the Republic of Mordovia]. Med Parazitol (Mosk). 2004 Oct-Dec;(4):45-50. [Article in Russian]

26. Soltani Majd N, Khodaverdi Dariyan E, Khaki P, Moradi Bidhendi S, Yahaghi E, Mirnejad R. Epidemiological patterns of Leptospira spp. among slaughterhouse workers in Zanjan– Iran. Asian Pac J Trop Dis. 2012; 2(2): S550–S52.

27. Mansour ghanaei F, Falah MS, Jafarshad R, Jokar F, Heidarzadeh A, Honarmand HR. [Clinical manifestation of leptospirosis in Guilan]. Iranian J Infect Dis Trop Med. 2008;13(42): 53-56. [Article in Persian]

28. Esmaili R, Alhani F, Hesamzadeh A, Alizadeh Navaei R, Parsaei M. [A report of 102 patients with leptospirosis in Mazandaran province between 2003 and 2008]. J Mazandaran Univ Med Sci. 2009; 19(72):72-5. [Article in Persian]

29. Golsha R, Khodabakhshi B, Rahnama A. [Leptospirosis in Golestan province in Iran (Reports of twelve cases)]. J Gorgan Uni Med Sci. 2007;9(2):76-80. [Article in Persian]

30. Perret P C, Abarca V K, Dabanch P J, Solari G V, García C P, Carrasco L S, et al. [Risk factors and frequency of positive antibodies for leptospirosis in a sub urban population near Santiago]. Rev Med Chil. 2005 Apr;133(4):426-31. [Article in Spanish]

31. Tangkanakul W, Smits HL, Jatanasen S, Ashford DA. Leptospirosis: an emerging health problem in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2005 Mar;36(2):281-8.

32. Herrmann-Storck C, Brioudes A, Quirin R, Deloumeaux J, Lamaury I, Nicolas M, et al. Retrospective review of leptospirosis in Guadeloupe, French West Indies 1994-2001. West Indian Med J. 2005 Jan;54(1):42-6.

33. Nascimento A, Verjovski-Almeida S, Van Sluys MA, Monteiro-Vitorello CB, Camargo L, Digiampietri LA, et al. Genome features of Leptospira interrogans serovar Copenhageni. Braz J Med Biol Res. 2004 Apr; 37(4):459-77.

Original Paper

Application of micro agglutination test in detecting serovars of *leptospira*

Khaki P (Ph.D)[1], Roohi Z (M.Sc)[2], Moradi Bidhendi S (Ph.D)*[1]

[1]Assistant Professor, Leptospira Laboratory Reference, Department of Microbiology, Razi Vaccine and Serum Research Institute,Karaj, Iran. [2]M.Sc in Microbiology, Leptospira Laboratory Reference, Department of Microbiology, Razi Vaccine and Serum Research Institute,Karaj, Iran.

Abstract

Background and Objective: Leptospirosis is an infectious and zoonosis disease, which is caused by *leptospira* and is transmitted from animal to human. The rapid diagnosis can control the disease, therefore this study was carried out to determine the prevalent serovars of *leptospira* using micro agglutination test (MAT) in human and cattles.

Method: In this descriptive study, 175 cattles and 67 suspected human serum samples were tested in five provinces in Iran during 2011-12. Serum samples tested by micro agglutination test using 20 live leptospira serogroup.

Results: Ninty nine out of 175 (56.5%) cattle serum samples and 31 out of 67 (46.2%) human samples were positive against *leptospira* antigen. The most prevalent *leptospira* serovar in cattles and human were *Serjoe hardjo* (61.9%) and *Serjoe serjoe* (23%), respectively. The most frequent titer in positive samples was equal to be 1/400. Fifty percent of human positive samples belong to farmers between 20-40 years old. The common contaminations belong to polluted water (61.1%) and infected blood (28.3%), respectively.

Conclusion: Using micro agglutination test, the most prevalent *leptospira* serovar in cattles was *Serjoe hardjo* and in human was *Serjoe serjoe*.

Keywords: *Leptospira*, Leptospirosis, Micro agglutination test, *Serjoe hardjo*, *Serjoe serjoe*, Farmer

*** Corresponding Author: Moradi Bidhendi S (Ph.D), E-mail: s.bidhendi@rvsri.ac.ir**

Received 1 Jul 2013 **Revised** 7 Oct 2013 **Accepted** 13 Oct 2013

This paper should be cited as: Khaki P, Roohi Z, Moradi Bidhendi S. [Application of micro agglutination test in detecting serovars of *leptospira*]. J Gorgan Uni Med Sci. 2014; 16(3): 99-105. [Article in Persian]