همین فایل قابل چاپ است

ارزیابی سرواپیدمیولوژیک فراوانی واریته‌های سرمی باکتری *لپتوسپیرا اینتروگانس* در جمعیت سگ‌های بلاصاحب قزوین با استفاده از آزمون آگلوتیناسیون میکروسکوپی

محسن ایماندار[1*]، امیر جوادی[2]، غلامرضا عبداله‌پور[3]، کامران میرزائی[4]، پریسا رحیمی سیاهکل‌محله[5]، علیرضا قنبری[6]، مصطفی میرزاعلیمحمدی[7]، اسحاق طاهرخانی[8]، جواد صادقی علویجه[9]

۱-دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، متخصص میکروب‌شناسی دامپزشکی، رئیس اداره بهداشت و مدیریت بیماری‌های دامی اداره کل دامپزشکی استان قزوین، قزوین، ایران.

۲- دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، متخصص بیماری‌های داخلی دام‌های بزرگ، معاونت سلامت اداره کل دامپزشکی استان قزوین، قزوین، ایران.

۳- استاد گروه بیماری‌های داخلی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۴- گروه آموزشی مرکز تحقیقات بیماری‌های منتقله از دام و فرآورده‌های دامی، سازمان دامپزشکی، تهران، ایران.

۵- دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، بورد تخصصی بهداشت و بیماری‌های پرندگان، رئیس اداره تشخیص و درمان اداره کل دامپزشکی استان قزوین، قزوین، ایران.

۶- دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، سرپرست کادر بهداشتی کشتارگاه صنعتی دام قزوین دشت بره، قزوین، ایران.

۷- دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

۸- دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، کارشناس مبارزه با بیماری‌های دامی، اداره کل دامپزشکی استان قزوین، قزوین، ایران.

۹- کارشناس کلینیکال پاتولوژی، گروه کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: dr.imandar@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۲۶ تاریخ پذیرش: //)

چکیده

لپتوسپیروزیس بیماری عفونی و زئونوز با انتشار جهانی است و عامل آن که سرووار از باکتری *لپتوسپیرا اینتروگانس* می‌باشد، در اثر تماس با ادرار حیوانات آلوده انتقال می‌یابد. سگ، به عنوان یکی از مخازن مهم باکتری مذکور، باعث ایجاد آلودگی در انسان و دام‌های اهلی می‌شود. هدف از انجام مطالعه حاضر، ارزیابی سرواپیدمیولوژیک واریته‌های سرمی *لپتوسپیرا اینتروگانس* با استفاده از آزمون آگلوتیناسیون میکروسکوپی (Microscopic Agglutination Test; MAT) در سگ‌های بلاصاحب قزوین بود. بدین منظور تعداد ۷۴ نمونه سرم جهت تشخیص آنتی‌بادی‌های ضد باکتری مذکور بررسی شدند که ۱۵ نمونه با یک یا دو سرووار واکنش مثبت نشان دادند. نتایج نشان داد که سگ‌های آلوده بیشتر تیترهای سرمی ۱:۱۰۰ (۴۷/۱ درصد) و ۱:۱۶۰۰ (۱۷/۶۵ درصد) دارند. بیشترین آلودگی با سروارهای *کنیکولا* با ۷۰/۶ درصد و *هارجو* ۱۱/۷۶ درصد و سروارهای *گریپوتیفوزا*، *پومونا* و *ایکتروهموراژیه* در جایگاه‌های بعدی بودند. در بین نمونه‌های مثبت، تعداد ۳ نمونه به سگ‌های ماده و ۱۲ نمونه به سگ‌های نر تعلق داشت و نتیجه آزمون مربع کای نشان داد

که ارتباط معنی‌داری بین جنسیت و آلودگی سرمی مذکور وجود دارد (p<۰/۰۵). همچنین ۸ نمونه به گروه‌های سنی بالای ۳ سال و ۷ نمونه به گروه‌های سنی کمتر از ۳ سال تعلق داشتند که ارتباط معنی‌داری بین گروه‌های سنی و مشاهده نتیجه مثبت وجود نداشت (p>۰/۰۵). حضور آلودگی سرمی در بین جمعیت سگ‌های بلاصاحب قزوین می‌تواند منجر به شیوع بالای عفونت بالینی در سگ‌های دارای سرپرست و حیوانات وحشی و اهلی، به ویژه گله‌های گوسفند شود که با توجه به زئونوز بودن بیماری ممکن است بهداشت عمومی را نیز تحت تاثیر قرار دهد.

کلیدواژه‌ها: لپتوسپیروزیس، سگ، سرواپیدمیولوژی، آزمون آگلوتیناسیون میکروسکوپی، قزوین.

مقدمه

لپتوسپیروزیس یا تب شالیزار یک بیماری عفونی و زئونوز با انتشار جهانی است که در اثر عفونت ناشی از سروارهای بیماری‌زای نوعی باکتری اسپیروکتی متعلق به جنس لپتوسپیرا، در پستانداران وحشی، اهلی و انسان بروز می‌کند (Grippi *et al.*, 2023). البته عامل بیماری لپتوسپیروزیس دارای طیف میزبانی وسیع بوده و علاوه بر پستانداران، از خزندگان، پرندگان، دوزیستان و ماهی‌ها نیز جدا شده‌است (McCallum *et al.*, 2019).

بیماری مذکور در مناطق گرمسیری و آب و هوای گرم و مرطوب و نیز در نواحی دشتی کنار رودخانه‌ها، دریاچه‌ها و برکه‌ها شیوع بیشتری دارد و به عنوان یکی از بیماری‌های قابل اخطار سازمان جهانی بهداشت دام محسوب می‌گردد (Knific *et al.*, 2019; Grippi *et al.*, 2023). عفونت‌های لپتوسپیرایی در مناطق مختلف ایران هم باعث بروز بیماری و ضررهای اقتصادی فراوانی شده‌است (Jafari *et al.*, 1997; Firouzi and Vand Yousefi, 2000)، البته استان‌های شمالی کشور به واسطه رطوبت بالا و بارش‌های فراوان، شرایط مساعدتری برای وقوع بیماری لپتوسپیروزیس دارند (Mansour-Ghanaei *et al.*, 2005). وقوع بیماری در آفریقای جنوبی در سگ و گاو، در نیوزیلند در گاو، در کلمبیا در سگ و در پاناما در خوک و حیوانات وحشی گزارش شده‌است (Bettelheim and Fogg., 2002). برخی از حیوانات مذکور به عنوان مخزن بیماری لپتوسپیروزیس عمل می‌کنند که جوندگان و حیوانات وحشی از این نظر در درجه اول اهمیت قرار دارند (Kikuti *et al.*, 2012). البته برخی از حیوانات اهلی مثل سگ، گاو و خوک هم به عنوان مخزن در انتشار عفونت‌های لپتوسپیرائی دخیل‌اند و با توجه به این‌که سگ می‌تواند به عنوان مخزن برای یک یا چند سروتیپ لپتوسپیرا عمل کند، لذا به عنوان عامل اصلی انتقال عفونت مذکور به انسان شناخته می‌شود (Grippi *et al.*, 2023).

تاکنون سروارهای متعددی در جنس لپتوسپیرا شناخته شده و براین اساس، بیش از ۲۵۰ سروار بیماری‌زای شناسایی شده، در ۱۵ سروگروه مختلف طبقه‌بندی شده‌اند (Grippi *et al.*, 2023). در این بین، سروارهای *کنیکولا* و *ایکتروهموراژیه*ٔ گونه *لپتوسپیرا اینتروگانس* به عنوان شایع‌ترین و شناخته شده‌ترین سروارهای آلوده‌کننده سگ، از سراسر دنیا گزارش شده‌اند (Ramirez *et al.*, 2017)؛ هر چند که آنتی‌بادی‌های اختصاصی زیادی مربوط به سایر سروارها مثل *اتومنالیس*، *براتیسلاوا*، *گریپوتیفوزا*، *هارجو*، *پومونا* و *زانونی* هم در سرم سگ‌های مبتلا به عفونت‌های لپتوسپیرائی یافت شده‌است (Chou *et al.*, 2014). از لحاظ تئوری، هر جایی که خطر تماس مستقیم یا غیرمستقیم با ادرار حیوانات آلوده وجود داشته باشد، هر پستاندار مستعدی مبتلا به لپتوسپیروز خواهد شد، از این رو ادرار خونی که

در بعضی از سگ‌ها دیده می‌شود، می‌تواند راهی در جهت پخش عفونت باشد؛ هر چند موارد زیادی از ابتلاء سگ‌های به ظاهر سالم نیز گزارش شده‌است (Tajbakhsh, 1997). سگ‌ها ممکن است در هر سنی مبتلا شوند ولی هیچ‌گونه استعداد نژادی در این خصوص مطرح نیست (Quinn *et al.*, 2002).

بررسی اپیدمیولوژیک بیماری لپتوسپیروزیس بسیار پیچیده می‌باشد، چرا که گردش باکتری لپتوسپیرا در یک منطقه، نیاز به شرایط با ثبات در آن منطقه دارد (Goldstein, 2010)، همچنین طیف بیماریزایی ناشی از سروارهای باکتری مذکور، می‌تواند بسیار متنوع و از یک عفونت تحت بالینی ملایم تا یک سندرم شدید بالینی با درگیری همزمان چند ارگان در بدن و حتی مرگ و میر متغیر باشد (Chou *et al.*, 2014; Miotto *et al.*, 2018). در سگ‌ها، ۳ شکل از بیماری لپتوسپیروزیس دیده می‌شود که شامل فرم حاد توأم با نارسایی کلیوی و کبدی که شایع‌ترین علامت آن ادرار خونی است (Minke *et al.*, 2009) و در سگ‌های جوان متداول می‌باشد (Tajbakhsh, 1997)، فرم تحت حاد همراه با زردی که شایع‌تر بوده و معمولاً در حیوانات با آلودگی مزمن رخ می‌دهد و با توجه به این‌که در طی آن، حضور باکتری در ادرار بدون بروز علائم بالینی رخ می‌دهد (WHO., 2003)، لذا حیوانات مبتلا به فرم مذکور برای سال‌ها به عنوان ناقل بیماری عمل می‌کنند. شکل سوم هم فرم اورمی (تیفوس سگ یا تب کنیکولا) است که شامل دهیدراتاسیون، استفراغ و زخم‌های دهانی می‌باشد (Miotto *et al.*, 2018). البته در طی دوره کمون ۴ الی ۱۲ روزه بیماری لپتوسپیروزیس نیز ممکن است علائم غیراختصاصی همچون تب، افسردگی، بی‌اشتهایی و درد عمومی بروز نماید. همچنین در مواردی منتژیت، التهاب سیستم بافت لایه میانی چشم یا Uveitis و سقط جنین هم گزارش شده‌است (Alonso *et al.*, 2001).

از طرف دیگر، لپتوسپیروزیس به عنوان یک بیماری شغلی در دامپزشکان، پرورش دهندگان یا صاحبان سگ‌ها، چوپانان، گله‌داران، کشاورزان، شالیکاران و کارگران کشتارگاه‌های دام مشاهده می‌شود (Tajbakhsh., 1997). کاهش خطر انتقال بیماری به انسان بستگی به تشخیص به موقع بیماری و میزان انتشار عفونت در سگ‌ها دارد؛ لذا تشخیص سگ‌های آلوده، به عنوان یک قدم اساسی در جهت کنترل بهداشت عمومی مطرح می‌باشد. سگ‌های بلاصاحب با توجه به سبک زندگی و عدم اجرای برنامه‌های واکسیناسیون در مقایسه با سگ‌های صاحب‌دار و اهلی، بیشتر در معرض خطر آلودگی به این عفونت قرار دارند (Miotto *et al.*, 2018). علی‌رغم این‌که روش‌های آزمایشگاهی متعددی جهت تشخیص حضور لپتوسپیراها وجود دارد، اما در حال حاضر با توجه به غیرقابل اعتماد بودن تشخیص میکروسکوپیک باکتری لپتوسپیرا به دلیل نازک بودن آن و نیز شرایط رشد آهسته باکتری فوق و وقت‌گیر بودن فرآیند کشت آن در آزمایشگاه، استفاده از روش‌های سرمی و مولکولی جهت تعیین میزان آلودگی لپتوسپیرائی توصیه شده‌است (Murray *et al.*, 2015). امروزه آزمون آگلوتیناسیون میکروسکوپی (Microscopic Agglutination Test; MAT)، به طور گسترده‌ای برای تشخیص سرمی بیماری لپتوسپیروزیس مورد استفاده قرار گرفته و حتی به عنوان روش استاندارد طلایی تشخیص سرمی بیماری مذکور مطرح می‌باشد، به طوری که علاوه بر شناسایی سروار آلوده‌کننده حیوان، میزان تیتر آنتی‌بادی‌های ضد لپتوسپیرا نیز به کمک روش فوق، در سرم قابل سنجش می‌باشد (Fahimipour *et al.*, 2021; Grippi *et al.*, 2023). البته روش‌های نوین مولکولی از قبیل PCR نیز به جهت سرعت بالا در شناسایی عامل باکتریایی، توان تشخیص مرحله عفونت را دارا می‌باشند (Khaki., 2016).

افزایش بی‌رویه تعداد سگ‌های بلاصاحب در سالیان اخیر و نبود اطلاعات و شواهد کافی در خصوص شیوع آلودگی لپتوسپیرایی در سگ‌های استان قزوین و با توجه به این‌که پژوهش پیش‌رو، نخستین بررسی عفونت لپتوسپیرایی در سگ‌های بلاصاحب ساکن در منطقه قزوین می‌باشد، لذا مطالعه حاضر با هدف تجزیه و تحلیل سرواپیدمیولوژیکی عفونت لپتوسپیرایی در سگ‌های بلاصاحب استان قزوین با استفاده از روش MAT انجام گردید.

مواد و روش‌ها

– **نحوه نمونه‌گیری**: در این مطالعه مقطعی (cross-sectional) که در فاصله اسفند ماه سال ۱۴۰۰ لغایت شهریور ماه سال ۱۴۰۱ به طول انجامید، تعداد ۷۴ نمونه خون به صورت تصادفی از بین جمعیت سگ‌های بلاصاحب استان قزوین (سگ‌هایی که فاقد سابقه واکسیناسیون و هر گونه علائم بالینی بودند) جمع‌آوری گردید. لازم به ذکر است که با عنایت به عدم اطلاع دقیق از جمعیت سگ‌های مورد نظر، با استفاده از فرمول تعیین حجم نمونه در مطالعات مقطعی (رابطه زیر) و با فرض وجود ۲۵ درصد آلودگی لپتوسپیرائی در جمعیت مذکور براساس مطالعات قبلی و نیز احتساب ۹۵ درصد سطح اطمینان و ۱۰ درصد دقت مطالعه، می‌بایست حداقل از تعداد ۷۴ قلاده سگ بلاصاحب، نمونه خون اخذ می‌شد:

$$n = \frac{z^2\ 1 - \frac{\alpha}{2} pq}{d^2}$$

سگ‌های مذکور از هر دو جنس نر و ماده بوده و در محدوده سنی ۱ الی ۱۱ سال قرار داشتند. عمل خونگیری از ورید سافن سگ‌های مورد نظر و با استفاده از لوله ونوجکت خلاءدار (Clot activation 10 ml ساخت ایران، شرکت فرزانه آرمان) انجام شد. بدین منظور مقدار ۷–۵ میلی‌لیتر خون از هر سگ گرفته شد تا در آزمایشگاه از آن ۳–۱ میلی‌لیتر سرم تهیه شود. لذا ابتدا لوله‌های حاوی نمونه‌های خون به مدت ۲ ساعت در دمای محیط قرار داده می‌شدند تا لخته خونی به صورت کامل تشکیل گردد و سپس به یخچال ۴ درجه سلسیوس منتقل می‌گردید. صبح روز بعد لوله‌ها از یخچال خارج می‌شد و با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (Heraeus مدل LaboFuge200 ساخت کشور آلمان) به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردیده و سپس سرم‌های حاصله، جداگانه به داخل میکروتیوب‌های دیگری منتقل می‌گردیدند. لازم به ذکر است که در این مرحله، میکروتیوب‌های مذکور کدگذاری می‌شدند تا مشخصات سگ‌های نمونه‌برداری شده تا پایان قابل ردیابی باشند. همچنین میکروتیوب‌های کدگذاری شده به فریزر منفی ۲۰ درجه سلسیوس منتقل می‌شدند تا زمان انجام آزمایش، در شرایط انجماد حفظ شوند.

– **نحوه انجام آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپیک (MAT)**: چند ساعت قبل از شروع آزمایشMAT، سرم‌های تهیه شده در مرحله قبل از فریزر خارج گردیده و در دمای آزمایشگاه به تدریج ذوب شدند. در ادامه برای تهیه رقت‌های سریالی ۱:۵۰ و بالاتر از سرم‌ها (تا رقت ۱:۳۲۰۰)، از محلول رقیق کننده EMJH base یا Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (محیط کشت غنی‌کننده پایه جداسازی لپتوسپیراها ساخت شرکت Difco:حاوی ترکیبات دی‌سدیم فسفات ۱ گرم، مونوپتاسیم فسفات ۰/۳ گرم، سدیم کلراید ۱ گرم، آمونیوم کلراید ۰/۲۵ گرم و تیامین ۰/۵ گرم) استفاده

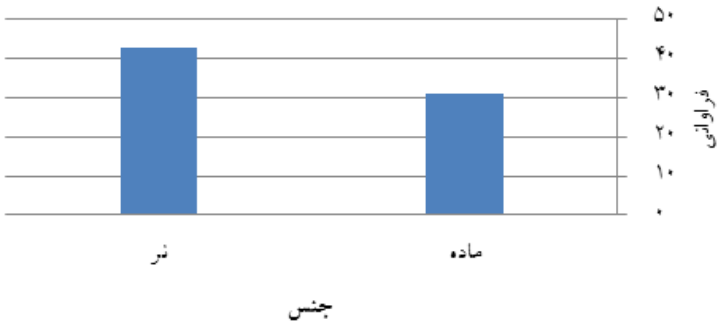
گردید. لازم به یادآوری است با توجه به اینکه در آزمایش MAT مقدار هم حجم سرم رقیق شده آنتی‌ژن بر روی لام اضافه می‌شود، لذا رقت نهایی نمونه سرمی دو برابر می‌شود. بنابراین حداقل رقتی که در بررسی حاضر مثبت تلقی شد، رقت۱:۱۰۰ بود. همچنین با توجه به نتایج مطالعات سرولوژیک که قبلاً انجام گرفته و نیز به منظور صرفه‌جویی در مصرف محیط کشت پایه و نیز تسریع در انجام آزمایش، از ۵ نوع سروار لپتوسپیرای شایع در ایران شامل سرووارهای *گریپوتیفوزا*، *کنیکولا*، *هارجو پومونا* و *ایکتروهموراژیه*، گونه *لپتوسپیرا اینتروگانس*، به عنوان آنتی‌ژن استفاده شد. ضمناً در بررسی حاضر، MAT انجام گرفته، بر اساس دستورالعمل سازمان جهانی بهداشت مربوط به سال ۲۰۲۱ با کمی تغییرات بود (WHO, 2021). اساس آزمایش MAT، بررسی میزان آگلوتیناسیون بین آنتی‌ژن مورد نظر و آنتی‌بادی‌های موجود در رقت‌های سریالی هر نمونه سرمی بود؛ بدین صورت که میزان آگلوتیناسیون در هر نمونه از یک مثبت تا ۴ مثبت درجه‌بندی می‌شد. البته نمونه‌هایی که آگلوتیناسیون آنها در حد یک مثبت بودند، منفی تلقی شدند و تنها نمونه‌های ۴ مثبت و ۳ مثبت به عنوان موارد مثبت و نمونه‌های ۲ مثبت تحت عنوان مشکوک ارزیابی شدند. همچنین برای تعیین تیتر نهایی آنتی‌بادی در نمونه‌های ۳ و ۴ مثبت، آزمایش MAT بر روی رقت‌های ۱:۱۰۰ الی ۱:۳۲۰۰ آن‌ها اجرا گردید. در نهایت هم بالاترین رقتی که در آن حداقل میزان آگلوتیناسیون ۳ مثبت مشاهده شد، به عنوان تیتر نهایی آنتی‌بادی‌های ضد سروار مورد نظر در گونه *لپتوسپیرا اینتروگانس*، در هر یک از نمونه‌های سرمی، تعیین گردید.

شایان ذکر است با توجه به خطر انتقال بیماری به انسان و نیز جلوگیری از آلودگی محیط کشت، تمامی مراحل کارهای عملی فوق در شرایط بهداشتی و در داخل هود میکروبیولوژی که جزء تجهیزات آزمایشگاه تحقیقاتی لپتوسپیروز بیمارستان آموزشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران بود، انجام گردید و میزان آگلوتیناسیون در مورد نمونه‌های سرمی هم با استفاده از میکروسکوپ زمینه تاریک (Dark field Mic. Olympus BX50) ارزیابی شد.

- **تحلیل آماری داده‌ها**: نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ver27 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و جهت بررسی اختلافات آماری معنی‌دار بین نسبت موارد مثبت جدا شده در گروه‌های مختلف از نظر جنسیت و گروه‌های سنی کمتر و بیشتر از سه سال، از آزمون مربع کای (Chi-square) استفاده گردید.

یافته‌ها

در طی مطالعه حاضر، در کل تعداد ۷۴ نمونه سرم خون مورد آزمایش MAT قرار گرفتند که تعداد ۳۱ نمونه (۴۱/۹ درصد) مربوط به سگ‌های ماده و ۴۳ نمونه (۵۸/۱ درصد) هم مربوط به سگ‌های نر بود (نمودار ۱).

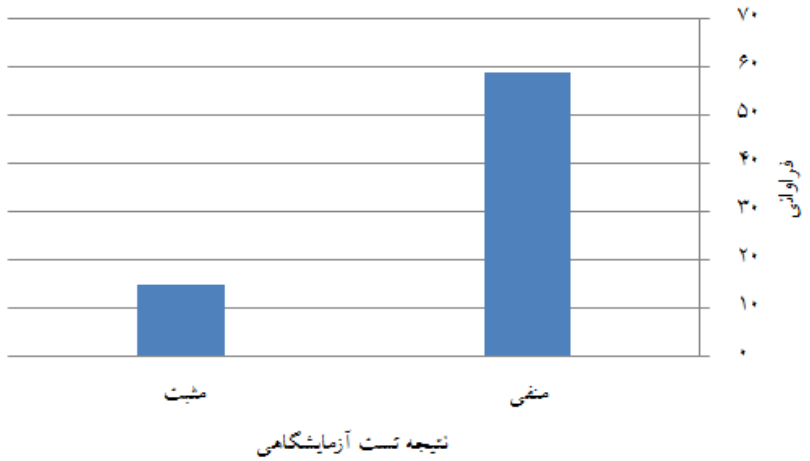


نمودار ۱- توزیع فراوانی سگ‌های مورد مطالعه از نظر جنسیت

همچنین تعداد ۳۵ نمونه (۴۷/۳ درصد) مربوط به سگ‌های با محدوده سنی بالای ۳ سال و ۳۹ نمونه (۵۲/۷ درصد) هم مربوط به سگ‌های با سن کمتر از ۳ سال بود (نمودار ۲).

نمودار ۲- توزیع فراوانی سگ‌های مورد مطالعه از نظر سن

بر اساس نتایج آزمایشگاهی MAT در تحقیق حاضر، تعداد ۵۹ مورد (۷۹/۷ درصد) از نمونه‌های مورد آزمایش، فاقد واکنش مثبت سرمی بوده و ۱۵ مورد (۲۰/۳ درصد) از نمونه‌های مذکور، دارای واکنش مثبت سرمی بر علیه حداقل یکی از ۵ سروار مورد نظر از گونه *لپتوسپیرا اینتروگانس*، بودند (نمودار ۳).



نمودار ۳- توزیع فراوانی سگ‌های مورد مطالعه از نظر نتایج منفی و مثبت در آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی

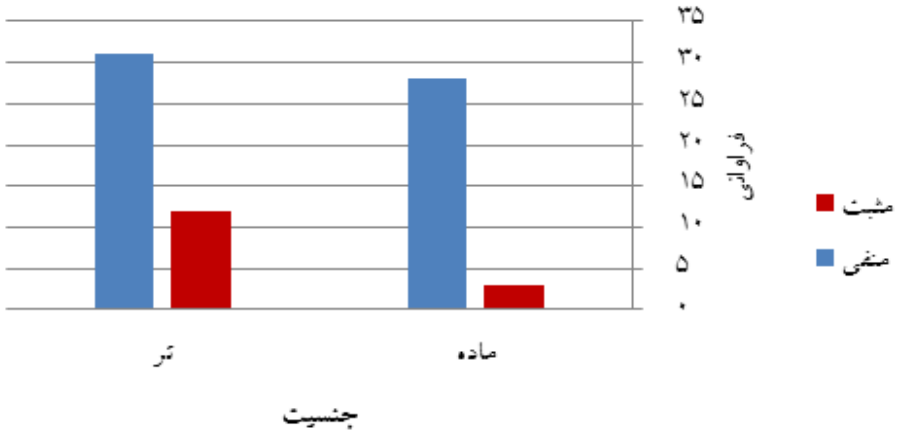
همچنین از نظر میزان فراوانی سرمی سروارهای مورد نظر در تحقیق حاضر، بیشترین آلودگی مربوط به سروار *کنیکولا* با ۷۰/۶ درصد موارد سرمی مثبت بود (۱۲ مورد). سروار *هارجو* هم با فراوانی ۱۱/۷۶ درصد در رتبه دوم (۲ مورد) و سروارهای *گریپوتیفوزا*، *ایکتروهموراژیه* و *پومونا* هر کدام با فراوانی ۵/۸۸ درصد (یک مورد)، از نظر میزان فراوانی سرمی در جایگاه‌های بعدی قرار گرفتند.

از طرف دیگر نظر بر این که در طی مطالعه حاضر، تیترهای سریالی ۱:۱۰۰ تا ۱:۳۲۰۰ مورد استفاده قرار گرفته‌اند، نتایج حاصله از آزمون MAT همچنین نشان داد که در سگ‌های آلوده تیترهای سرمی ۱:۱۰۰ به تعداد ۸ مورد (۴۷/۱ درصد)، ۱:۲۰۰ به تعداد ۲ مورد (۱۱/۷۶ درصد)، ۱:۴۰۰ به تعداد یک (۵/۸۸ درصد)، ۱:۸۰۰ به تعداد ۲ مورد معادل ۱۱/۷۶ درصد، تیتر ۱:۱۶۰۰ به تعداد ۳ مورد (۱۷/۶۵ درصد) و ۱:۳۲۰۰ با یک مورد معادل ۵/۸۸ درصد از نمونه‌های مثبت سرمی را شامل بودند (جدول ۱).

جدول ۱- میزان فراوانی سروارهای گونه *لپتوسپیرا اینتروگانس* بر اساس تیترهای موارد سرمی مثبت حاصله در آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی

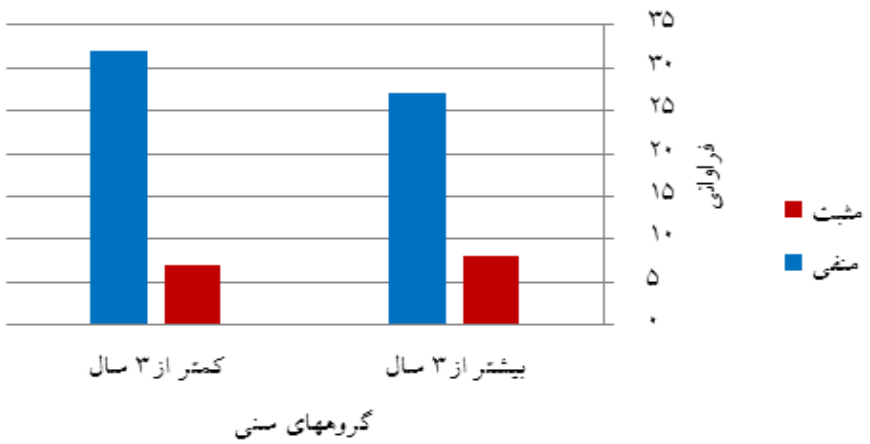
فراوانی براساس تیتر سرمی **سروار مورد نظر**	**۱:۱۰۰**	**۱:۲۰۰**	**۱:۴۰۰**	**۱:۸۰۰**	**۱:۱۶۰۰**	**۱:۳۲۰۰**	**تعداد کلی سروار (درصد)**
کنیکولا	۳	۲	۱	۲	۳	۱	۱۲ (۷۰/۶)
گریپوتیفوزا	۱	–	–	–	–	–	۱ (۵/۸۸)
پومونا	۱	–	–	–	–	–	۱ (۵/۸۸)
ایکتروهموراژیه	۱	–	–	–	–	–	۱ (۵/۸۸)
هارجو	۲	–	–	–	–	–	۲ (۱۱/۷۶)
تعداد موارد مثبت (درصد)	۸ (۴۷/۱)	۲ (۱۱/۷۶)	۱ (۵/۸۸)	۲ (۱۱/۷۶)	۳ (۱۷/۶۵)	۱ (۵/۸۸)	۱۷ (۱۰۰)

توزیع فراوانی نتایج آزمون آزمایشگاهی در جنس‌های مختلف جمعیت سگ‌های مورد مطالعه هم در نمودار ۴ نمایش داده شده است. همانطور که در نمودار مشخص است، در تحقیق حاضر فراوانی موارد مثبت مشاهده شده در سگ‌های نر ۲۷/۹ درصد بوده که بیشتر از سگ‌های ماده (۹/۷ درصد) می‌باشد. نتیجه آزمون مربع کای هم نشان داد که ارتباط معنی‌دار آماری بین جنسیت و نتایج مثبت سرمی مشاهده شده در آزمون MAT وجود دارد ($p<۰/۰۵$).



نمودار ۴- توزیع فراوانی نتایج منفی و مثبت در آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی براساس جنسیت سگ‌های مورد مطالعه

همچنین توزیع موارد مثبت و منفی در گروه‌های سنی مختلف در جمعیت سگ‌های مورد مطالعه در نمودار ۵ ارائه شده است. همانطور که در نمودار مشخص است، در این مطالعه فراوانی موارد مثبت مشاهده شده در سگ‌های با سن بیشتر از ۳ سال ۲۲/۹ درصد بود که تا حدودی بیشتر از سگ‌های جوان‌تر از ۳ سال (۱۷/۹ درصد) می‌باشد؛ اما نتیجه آزمون مربع کای نشان داد که ارتباط معنی‌دار آماری بین گروه‌های سنی مذکور و نتایج مثبت سرمی مشاهده شده در آزمون MATوجود ندارد ($p>۰/۰۵$).



نمودار ۵- توزیع فراوانی نتایج منفی و مثبت در آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی براساس گروه سنی سگ‌های مورد مطالعه

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده از آزمون MAT در مطالعه حاضر نشان داد که فراوانی آلودگی سرمی در نمونه‌های اخذ شده از سگ‌های بلاصاحب استان قزوین به میزان ۲۰/۳ درصد می‌باشد که در مقایسه با نرخ آلودگی‌های گزارش شده در این خصوص در مطالعات پیشین، متفاوت می‌باشد:

نتایج به دست آمده در برخی از مطالعات با یافته‌های مطالعه حاضر، همخوانی ندارد؛ به طوری که در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۳ میزان ۴۱/۶ درصد از سگ‌های مورد بررسی دارای واکنش مثبت در برابر آنتی‌ژن‌های *لپتوسپیرا اینتروگانس* بودند. شایان ذکر است که در مطالعه مذکور، تعداد ۲۴ قلاده سگ نگهبان در سطح گله‌های گاوهای شیری اطراف مشهد تحت آزمایش MAT قرار گرفتند و تعداد ۱۰ قلاده از آن‌ها، سرم مثبت گزارش گردیدند (Talebkhan Garossi *et al.*, 2003). در یک بررسی دیگر هم در اهواز که در سال ۲۰۰۸ توسط آویژه و همکاران انجام گرفته، از تعداد ۱۴۹ قلاده سگ تحت بررسی، تعداد ۸ نمونه سرمی مربوطه (۵/۴ درصد) بر علیه حداقل یکی از سروتیپ‌های لپتوسپیرا واکنش نشان دادند. در پژوهش مذکور که با هدف مقایسه میزان شیوع عفونت لپتوسپیرائی در سگ‌های مناطق شهری و روستایی انجام گرفته بود، نرخ شیوع در سگ‌های شهری بسیار پایین و در مقابل در سگ‌های روستایی و بلاصاحب با وضعیت بهداشتی ضعیف، بالا گزارش گردیده‌است (Avizeh *et al.*, 2008). در یک بررسی دیگر در مکزیک در سال ۲۰۱۳ از تعداد ۹۲ قلاده سگ نگهداری شده در سطح پناهگاه‌ها، جهت تشخیص آنتی‌بادی‌های ضدلپتوسپیرا، ۸ نمونه سرمی معادل ۸/۶ درصد نمونه‌ها در آزمایش MAT دارای واکنش مثبت بودند (Cruz-Romero *et al.*, 2013). آرزمانی و همکاران نیز در سال ۲۰۲۱ در منطقه بجنورد، شیوع بالای سرمی لپتوسپیرا در سگ‌های بلاصاحب آن منطقه با استفاده از روش MAT را با میزان آلودگی ۷۱ درصد گزارش نموده‌اند (Arzamani *et al.*, 2021). همچنین در مطالعه‌ای در تایوان در سال ۲۰۱۴، میزان آلودگی سرمی با سویه‌های لپتوسپیرا در جمعیت سگ‌های بلاصاحب با استفاده از روش PCR، ۳۹/۷۲ درصد گزارش شده‌است (Chou *et al.*, 2014). به نظر می‌رسد تفاوت‌های موجود در جمعیت مورد مطالعه، تعداد و نحوه انتخاب نمونه‌ها و نوع آزمایشات مورد استفاده، از دلایل احتمالی مربوط به تفاوت‌های مشاهده شده در نتایج حاصله از تحقیقات ذکر شده در بالا نسبت به یافته‌های تحقیق حاضر باشند. البته از طرف دیگر هم نتایج حاصله در تحقیق حاضر، با نتایج بسیاری از مطالعات انجام گرفته در داخل و خارج از کشور همخوانی دارد، به طوری که در مطالعه فهیمی‌پور و همکاران در سال ۲۰۲۱ در استان البرز، میزان شیوع آلودگی لپتوسپیرائی در سگ‌های بلاصاحب، ۲۱/۸۴ درصد برآورد گردیده‌است (Fahimipour *et al.*, 2021). همچنین در مطالعه‌ای در کشور بوسنی و هرزگوین در سال ۲۰۱۹ که تعداد ۳۰۰ نمونه سرم خون اخذشده از ۳ گروه سگ‌های خانگی، بلاصاحب و نگهبان گله با استفاده از ۱۲ سروار *لپتوسپیرا اینتروگانس* با روشMAT مورد آزمایش قرار گرفتند، ۲۱/۶ درصد از سگ‌های بلاصاحب، سرم مثبت شدند (Knific *et al.*, 2019). همچنین سرم مثبت بودن در روشMAT، در برخی از کشورهای دنیا هم به این شرح می‌باشد؛ شیلی ۲۵/۹ درصد (Lelu *et al.*, 2015)، برزیل ۲۱/۴ درصد (Seva *et al.*, 2020) و تایلند ۱۰/۹ درصد (Pamipuntu and Suwannarong., 2016). مقایسه مطالعات مختلف صورت گرفته در این حوزه و وجود

دامنه وسیع عفونت نشان می‌دهد که میزان آلودگی سرمی، گردش و حضور باکتری در یک منطقه نیاز به شرایط با ثبات در آن منطقه دارد و بدیهی است وجود عوامل متغیر در مناطق مختلف منجر به دستیابی به نتایج با میزان رخداد آلودگی متفاوت در آن مناطق خواهد گردید (Goldstein, 2010) .

از طرف دیگر در مطالعه حاضر بر اساس نتایج آزمون MAT مشخص گردید که بیشترین آلودگی در بین نمونه‌های مثبت، به سروار اختصاصی سگ یعنی *کنیکولا* با فراوانی ۷۰/۶ درصد تعلق داشت و سرووارهای *هارجو*، *گریپوتیفوزا*، *ایکتروهموراژیه* و *پومونا* به ترتیب در جایگاه‌های بعدی قرار گرفتند. نتایج بیشتر مطالعات انجام گرفته قبلی نیز با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارند. در این راستا، در مطالعه انجام شده توسط کیکوتی و همکاران در سال ۲۰۱۲ و کروز – رومرو در سال ۲۰۱۳ در مکزیک هم، شایع‌ترین سرووار شناسایی شده، *کنیکولا* بوده‌است (Kikuti *et al.*, 2012; Cruz-Romero *et al.*, 2013). فهیمی‌پور و همکاران در سال ۲۰۲۱ در استان البرز نیز توانستند سرووار *کنیکولا* را به عنوان سروتیپ غالب در سگ‌های سرم مثبت شناسایی نمایند. قابل ذکر اینکه در مطالعه نامبردگان هم سرووار *پومونا* کمترین میزان آلودگی را دارا بود که این یافته نیز با نتایج مطالعه حاضر کاملا همخوانی دارد (Fahimipour *et al.*, 2021). همچنین در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۲۳ در جنوب ایتالیا انجام گرفته، سرووارهای غالب به ترتیب *کنیکولا*، *براتیسلاوا* و *ایکتروهموراژیه* گزارش شده‌اند (Grippi *et al.*, 2023). این در حالی است که در برخی مطالعات، سایر سرووارها به عنوان شایع‌ترین سویه غالب مطرح می‌باشند، به طوری که در مطالعه طالب‌خان گروسی و همکاران در مشهد در سال ۲۰۰۳، سرووارهای آلوده کننده در سگ‌ها به ترتیب *ایکتروهموراژیه* و *کنیکولا* بودند (Talebkhan Garossi *et al.*, 2003). همچنین در سال ۲۰۰۸، سرووارهای *هارجو*، *بالوم*، *ایکتروهموراژیه* و *گریپوتیفوزا*، به عنوان سرووارهای غالب در سگ‌های منطقه اهواز گزارش شده‌اند و نکته جالب اینکه سرووار *کنیکولا* در سگ‌های منطقه مذکور، غالب نبوده‌است (Avizeh *et al.*, 2008). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۹ در بوسنی و هرزگوین توسط کنیفیک و همکاران هم انجام شده، بالاترین میزان نتایج سرمی مثبت متعلق به سرووار *پومونا* بوده و سرووارهای *کنیکولا* و *ایکتروهموراژیه* در رده‌های بعدی قرار داشتند (Knific *et al.*, 2019). در مطالعه آرزمانی و همکاران در سال ۲۰۲۱ در منطقه بجنورد نیز سروتیپ غالب، *گریپوتیفوزا* گزارش شده‌است (Arzamani *et al.*, 2021). مقایسه مطالعات صورت گرفته نشان می‌دهد عفونت ناشی از لپتوسپیراها توسط سروتیپ‌های بومی آن منطقه که به عوامل محیطی و اکولوژیکی وابسته هستند، ایجاد می‌گردد (Maleki *et al.*, 2021) . از سوی دیگر، سگ‌ها می‌توانند در گسترش سویه‌های لپتوسپیرای بیماری‌زا در محیط نقش ایفا کنند (Maleki *et al.*, 2021) .

همچنین یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تیترهای مثبت حاصله در آزمون MAT، در محدوده ۱:۱۰۰ تا ۱:۳۲۰۰ قرار دارند و بیشترین نمونه‌های مثبت دارای تیتر ۱:۱۰۰ بودند (جدول ۱) که این یافته با نتایج مطالعات مشابه انجام گرفته در ایران، همخوانی دارد (Zeynali *et al.*, 2003; Fahimipour *et al.*, 2021). در مطالعه انجام گرفته در سال ۲۰۱۹ در بوسنی و هرزگوین هم، بیشترین مقدار پاسخ مثبت در رقت ۱:۱۰۰ و به میزان ۳۹/۳ درصد به دست آمده که با نتایج مطالعه حاضر مشابهت دارد (Knific *et al.*, 2019). البته لازم به ذکر است که بر اساس استانداردهای معرفی‌شده توسط گروه مشاورین عالی سازمان بهداشت جهانی در زمینه لپتوسپیروز (WH0/LERG)، یکی از معیارهای تشخیص

قطعی لپتوسپیروزیس مشاهده تیتر ۱:۴۰۰ و بالاتر می‌باشد (Abdollahpour, 2015) و همانگونه که در جدول ۱ تحقیق حاضر گزارش شده، نتایج مطالعه ما نشان می‌دهد که ۸ مورد از سگ‌های تحت مطالعه دارای تیتر ۱:۴۰۰ و بالاتر بودند که این امر نشان دهنده عفونت فعال در آن‌ها بوده‌است و این یافته بدان معنی است که به احتمال زیاد، ۸ قلاده سگ مذکور، علی‌رغم این‌که در زمان اخذ نمونه ظاهراً سالم به‌نظر رسیده‌اند، اما در حال دفع باکتری از ادرار بوده‌اند. از طرف دیگر در سیسیل ایتالیا نیز آزمایش سرم یک قلاده سگ با روش MAT که به طور بالینی علائم بیماری را تظاهر می‌نمود، نتایج مثبت برای سروار *کنیکولا* را در رقت ۱:۴۰۰ نشان داده‌است (Chetta *et al.*, 2014). همچنین در مطالعه فهیمی‌پور و همکاران در استان البرز، عمده تیترهای سرمی در سگ‌های دارای سرم مثبت، رقت‌های۱:۲۰۰ و ۱:۴۰۰ گزارش گردیده‌است (Fahimipour *et al.*, 2021). در بررسی آرزمانی و همکاران در سال ۲۰۲۱ نیز تعداد ۲ نمونه از نمونه‌های مثبت، با تیتر ۱:۱۶۰۰ برای سروار *گریپوتیفوزا* واکنش مثبت نشان داده‌اند (Arzamani *et al.*, 2021). در این خصوص قابل ذکر است، همانگونه که قبلاً نیز اشاره شده، در طی مطالعه حاضر، تمام نمونه‌هایی که رقت ۱:۵۰ آن‌ها در حد ۳ مثبت و ۴ مثبت بود، آزمایش MAT نهائی نمونه‌های مذکور با استفاده از رقت‌های ۱:۱۰۰ تا ۱:۳۲۰۰ انجام گردیده‌است، در حالی‌که در اروپا، تیترهای بالاتر یعنی از ۱:۴۰۰ تا ۱:۸۰۰ جهت شناسایی سروورهای مسئول ایجاد عفونت‌های بالینی لپتوسپیرائی در روش MAT در نظر گرفته می‌شوند.

از طرف دیگر در نتایج مطالعه حاضر نیز، تعداد موارد مثبت سرمی در سگ‌های نر بیشتر از سگ‌های ماده بوده‌است (p<۰/۰۵)، که این یافته مشابه با نتایج مطالعه‌ای قبلی می‌باشد که نشان از درصد بالای نمونه‌های سرم مثبت در جنس نر نسبت به جنس ماده می‌باشد (Ward *et al.*, 2004). در مطالعه طالب خان و همکاران در مشهد نیز از تعداد ۲۰ قلاده سگ نر نگهبان ۹ مورد (۴۵ درصد) و از ۴ قلاده سگ ماده فقط یک مورد (۲۵ درصد) دارای آنتی‌بادی مثبت بر علیه باکتری لپتوسپیرا بودند (Talebkhan Garossi *et al.*, 2003). هر چند که بررسی نتایج برخی مطالعات هم نشان می‌دهد که فراوانی آلودگی سرمی بین نرها و ماده‌ها یکسان بوده و اختلاف معنی‌داری بین جنسیت و آلودگی لپتوسپرائی وجود ندارد (Cruz-Romero *et al.*, 2013; Chou *et al.*, 2014)؛ اما آنچه که در مورد یافته‌های تحقیق حاضر در این خصوص منطقی به نظر می‌رسد این است که می‌توان به نوع کاربرد بیشتر سگ‌های نر به عنوان سگ‌های گله و نگهبان اشاره کرد که احتمالاً در مواجهه بیشتر با ناقلین آلوده خواهند بود و این امر را می‌توان به عنوان یکی از دلایل احتمالی آلودگی بیشتر در سگ‌های نر بیان نمود.

همچنین تجزیه و تحلیل آماری نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین گروه‌های سنی مختلف و نتایج مثبت سرمی وجود ندارد که این یافته با نتایج مطالعه‌ای در ایالات متحده آمریکا همخوانی دارد (Ward *et al.*, 2004). البته این در حالی است که نتایج مطالعات انجام گرفته در مشهد و البرز نشان داده، سگ‌های جوان (عمدتاً ۲ الی ۳ ساله) حساسیت بیشتری در برابر ابتلا به عفونت لپتوسپیرائی دارند (Talebkhan Garossi *et al.*, 2003; Fahimipour *et al.*, 2021). لذا نویسندگان مطالعه حاضر بر اساس مطالعات قبلی مذکور تصمیم گرفتند که یافته‌های مثبت مشاهده شده در گروه‌های سنی بیشتر و کمتر از ۳ سال را با هم مقایسه نمایند که نتایج این مقایسه نشان داد تفاوت معنی‌دار آماری بین نسبت موارد مثبت مشاهده شده در این دو گروه وجود ندارد.

نتیجه نهائی این که یافته‌های حاصله از مطالعه حاضر نشان داد که سگ‌های بلاصاحب قزوین در معرض خطر ابتلا به لپتوسپیرا قرار دارند و حضور سطوح مختلف آنتی‌بادی‌های ضد لپتوسپیرا در سرم این سگ‌ها، می‌تواند منجر به شیوع عفونت‌های بالینی در آن‌ها گردد. در این راستا به نظر می‌رسد که سگ‌ها فارغ از جنسیت، سن و نژاد در صورتی که فاقد ایمنیت بر علیه بیماری لپتوسپیروزیس باشند، می‌توانند به عنوان یک خطر بالقوه برای گسترش لپتوسپیرا مطرح باشند و به عنوان منبع عفونت به ویژه برای سروووار *کنیکولا* برای سایر حیوانات اهلی، وحشی و حتی انسان عمل کنند و از این طریق بهداشت عمومی را تحت تاثیر قرار دهند. همچنین با توجه به مشترک بودن بیماری لپتوسپیروز، باید مطالعات سرولوژیک مدونی در دستور کار قرار گیرد؛ لذا نیاز به مطالعات جامع‌تری است که درک بیشتری از اپیدمیولوژی بیماری در بین جمعیت سگ‌ها در مناطق مختلف را ارائه نماید، لذا پیشنهاد می‌گردد مطالعات اپیدمیولوژیک جامع به منظور تعیین عوامل خطر بروز این بیماری در مناطق مختلف کشور صورت پذیرد. همچنین مدیریت صحیح سگ‌های مبتلاء به فرم مزمن بیماری، باید برای کاهش آلودگی محیطی اجرا گردد؛ هر چند که شناسایی چنین سگ‌هایی همچنان چالش برانگیز می‌باشد. با توجه با این که سگ‌ها به ویژه سگ‌های بلاصاحب منبع مهمی برای شیوع لپتوسپیروز در میان گونه خود و نیز سایر پستانداران می‌باشند، لذا پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی علاوه بر آزمایش MAT، از روش‌های دیگر مانند کشت باکتری به منظور جداسازی و شناسایی عامل بیماری و نیز از آزمایش PCR و دیگر روش‌های نوین مولکولی به منظور بررسی ژنتیکی سویه‌های شایع در منطقه استفاده گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از سازمان مدیریت پسماند شهرداری قزوین اعلام می‌کنند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافع ندارند.

منابع

- Abdollahpour, G. (2015). Leptospirosis, a disease that can be transmitted from animals to humans. 1st ed. Tehran University Press, (No.3720), pp: 6-30. [In Persian]
- Alonso-Andicoberry, C., Garcia-Pena, F.J., Pereira-Bueno, J., Costas, E., and Ortega-Mora, L. M. (2001). Herd-level risk factors associated with Leptospira spp. Seroprevalence in dairy and beef in Spain. Preventive Veterinary Medicine. 52(2): 109-117.
- Arzamani, K., Abdollahpour, G., Ghasemzadeh-Moghaddam, H.M., Alavinia, M., Neela, V., and Hashemi, S.A. (2021). High prevalence of Leptospirosis among stray dogs of Bojnurd County, Northeast of Iran. Zoonoses & infections in animals / International Journal of Infectious Diseases, 101(1): 529–546. [In Persian]
- Avizeh, R., Ghorbanpoor, M., Hatami, S., and Abdollahpour, G. (2008). Seroepidemiology of canine Leptospirosis in Ahvaz, Iran. International Journal of Veterinary Research, 2(1): 75-79. [In Persian]

- Bettelheim, K.A. and Fogg, T.R. (2002). Serological studies on Leptospiral antibodies in dairy milkers in three region of South Island of New Zealand. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Disease, 9(4): 355-364.
- Chetta, M., Vicari, D., Agnello, S., Percipalle, M., Ferrantelli, V. and Vitale, M. (2014). Canin Leptospirosis cases and molecular screening for *Leptospira interrogans* infection. Pakistan Veterinary Journal, 34(2): 260-262.
- Chou, C.H., YeH, T.M., Lu, Y.P., Shih, W.L., Chang, C.D. Chien, C.H., *et al*. (2014). Prevalence of Zoonotic Pathogens by Molecular detection in Stray Dogs in Central Taiwan. The Thai Journal of Veterinary Medicine, 44(3): 363-375.
- Cruz-Romero, A., Romero-Salas, D., Ahuja Aguirre, C., Aguilar-Domínguez, M. and Bautista-Piña, Ch. (2013). Frequency of canine Leptospirosis in dog shelters in Veracruz, Mexico. African Journal of Microbiology Research, 7(16): 1518-1521.
- Fahimipour, A., Khaki, P. and Moradi Bidhendi, S. (2021). Seroepidemiological Analysis of Leptospiral infection using MAT in Stray Dogs in Alborz, Iran. Archives of Razi Institute, 76(2): 391-396.
- Firouzi, R. and Vand Yousefi, J. (2000). Serological investigation of Leptospirosis in cattle farms around Shiraz. Iranian Journal of Veterinary Research, 1(2): 118-123. [In Persian]
- Goldstein, R.E. (2010). Canine Leptospirosis. Veterinary Clinics Northern America Small Animal Practice, 40(6): 1091-1101.
- Grippi, F., Cannella, V., Macaluso, G., Blanda, V., Emmolo, G., Santangelo, F., *et al.* (2023). Serological and Molecular Evidence of Pathogenic Leptospira spp. in Stray Dogs and Cats of Sicily (South Italy), 2017–2021. Microorganisms, 11(2): 385-396.
- Jafari, S.M., Vand Yousefi, J. and Azarvandi, A. (1997). Evaluation of clinically suspected Leptospirosis and identifying strains involved in bovine Leptospira in the uromia city. Pajouhesh va Sazandeghi, 10(1): 120-122. [In Persian]
- Khaki, P. (2016). Clinical laboratory diagnosis of human leptospirosis. International Journal of Enteric Pathogens, 4(1): 1-7.
- Kikuti, M., Langoni, H., Nobrega, D., Corrêa, A. and Ullmann, L. (2012). Occurrence and risk factors associated with canine Leptospirosis. The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, 18(1): 124-127.
- Knific, R.L., Ćutuk, A., Gračner, G.G. and Dovč, A. (2019). Seroprevalence of Leptospirosis in various categories of dogs in Bosnia and Herzegovina. Veterinarski Arhiv, 89(5): 627-640.
- Lelu, M., Muñoz-Zanzi, C., Higgins, B. and Galloway, R. (2015). Seroepidemiology of Leptospirosis in dogs from rural and slum communities of Los Rios Region, Chile. BMC Veterinary Research, 11(31): 1-8.
- Maleki, S., Zakian, A. and Abdollahpour, G. (2021). Seroepidemiology of Leptospira interrogans infection in ruminants of Lorestan Province: A Cross-Sectional Study. Journal of Veterinary Research, 75(4): 486-497. [In Persian]
- Mansour-Ghanaei, F., Sarshad, A., Fallah, M.S., Pourhabibi, A., Pourhabibi, K. and Yousefi-Mashhoor M. (2005). Leptospirosis in Guilan, a northern province of Iran: Assessment of the clinical presentation of 74 cases. Medical Science Monitor, 11(5): 219-223.
- McCallum, K.E., Constantino-Casas, F., Cullen, J.M., Warland, J.H., Swales, H. and Linghley, N. (2019). Hepatic Leptospiral infections in dogs without obvious renal involvement. Journal of Veterinary Internal Medicine, 33(1): 141-150.
- Minke, J.M., Bey, R., Tronel, J.P., Latour, S., Colombet, G., Yvorel, J., *et al.* (2009). Onset and duration of protective immunity against clinical disease and renal carriage in dogs provided by a bivalent inactivated Leptospirosis vaccine. Veterinary Microbiology, 137(1-2): 137-145.
- Miotto, B.A., Guilloux, A.G.A., Tozzi, B.F., Moreno, L.Z., da Hora, A.S. and Dias, R.A. (2018). Prospective study of canine Leptospirosis in shelter and stray dog populations: Identification of chronic carriers and different Leptospira species infecting dogs. PLoS one, 13(7): 1-23.

- Murray, P.R., Rosenthal, K.S. and Pfaller, M.A. (2015). Medical microbiology. E-book, 8th ed. Elsevier Health Sciences. Chapter-32: Treponema, Borrelia and Leptospira, pp: 389-392.
- Pumipuntu, N. and Suwannarong, K. (2016). Seroprevalence of Leptospira spp. in cattle and dogs in Mahasarakham province, Thailand. Journal of Health Research, 30(3): 223-226.
- Quinn, P.J., Markey, B.K., Carter, M.E., Donnely, W.J. and Leonard, F.C. (2002). Veterrinary microbiology and microbial disease. 2nd ed., Blackwell Publishing, Oxford, pp: 175-184, 453-455, 484.
- Ramírez, I., Enríquez Verdugo, I., Castro del Campo, N. and López Moreno, H.S. (2017). Prevalence and risk factors associated with serovars of Leptospira in dogs from Culiacan, Sinaloa. Veterinaria México OA, 4(2): 1-12.
- Seva, P., Brandao, D., Godoy, N., Souza, O., Filho, A., Villegas, T., *et al*. (2020). Seroprevalence and incidence of Leptospira spp. in domestic dogs in the Southeast region of São Paulo State, Brazil. Brazilian Journal of Veterinary Research, 40(5): 399-407.
- Tajbakhsh, H. (1997). General Bacteriology. 4th ed., Tehran University Press, Tehran. [In Persian]
- Talebkhan Garossi, M., Vand Yousefi, J., Familghadakchi, H. and Nowrouzian, I. (2003). Seroepidemiological investigation of leptospirosis in herd dogs around Mashhad. Journal of Veterinary Research, 58(2): 177-179. [In Persian]
- Ward, M.P., Guptill, L.F., Prahl, A. and Ching, W.C. (2004). Serovar-specific prevalence and risk factors for Leptospirosis among dogs: 90 cases (1997–2002). Journal of Veterinary Medicine Associated, 224(12): 1958-1963.
- World Organization of Animal Health. (2021). Leptospirosis- WOAH. www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.12_LEPTO.
- World Health Organization. (2003). Human leptospirosis - WHO. www.who.int/publications/i/item/human-leptospirosis-guidance-for-diagnosis-surveillance-and-control.
- Zeynali, A., Rad, M., Vand Yousefi, J., Tabatabayi, A.H. and Bokaei, S. (2003). Serological findings of Leptospiral infection by microscopic agglutination test (MAT) in dogs of Tehran and suburbs. Iranian Journal of Veterinary Medicine, 58(2): 133-137. [In Persian]

Seroepidemiological evaluation of the frequency of *Leptospira interrogans* serum varieties in the stray dog population of Qazvin using by microscopic agglutination test

Imandar, M.[1*], Javadi, A.[2], Abdollahpour, G.[3], Mirzaie, K.[4], Rahimi-Siahkal Mahale, P.[5], Qanbari, A.[6], Mirzaalimohammadi, M.[7], Taherkhani, E.[8], Sadeghi Alvijeh, J.[9]

1- D.V.M., D.V.Sc. in Veterinary Microbiology, The Head of Health and Management of Animal Diseases Unit of Qazvin Province Directorate of Iran Veterinary Organization, Qazvin, Iran.

2- D.V.M., D.V.Sc. in Large Animal Intenal Medicine, Deputy of Health of Qazvin Province directorate of Iran Veterinary Organization, Qazvin, Iran

3- Professor, Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

4- Animal and Animal Products-borne Diseases Research Center, Iran Veterinary Organization, Tehran, Iran.

5- D.V.M., Board Certificate in Poultry Medicine, The Head of Diagnosis and Treatment unit of Qazvin Province Directorate of Iran Veterinary Organization, Qazvin, Iran.

6- D.V.M., Supervisor of the Hygiene Staff of Dashte Bareh Slaughterhouse, Qazvin Provine Directorate of Iran Veterinary Organization, Qazvin, Iran.
7- D.V.M., Graduate of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Orumiyeh Branch, Islamic Azad University, orumiyeh, Iran.
8- D.V.M., Expert in Combating Animal Disease, Qazvin Provine Directorate of Iran Veterinary Organization, Qazvin, Iran.
9- Expert in the Clinical Pathology, Department of Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
*Corresponding author's email: dr.imandar@gmail.com
(Received: ----------Accepted: ----------)

Abstract

Leptospirosis is an infectious and zoonotic disease with global spread, and its agent which is a serovar of *Leptospira interrogans* bacterium, is transmitted by contact with the urine of infected animals. The Dog, as one of the important reservoirs of the mentioned bacteria, causes contamination in humans and domestic animals. The aim of the present study was to evaluate seroepidemiological *Leptospira interrogans* serum varieties using microscopic agglutination test (MAT) in stray dogs of Qazvin. For this purpose, a total of 74 serum samples were examined for the detection of antibodies against the mentioned bacteria, 15 samples showed a positive reaction with one or two serovars of *Leptospira interrogans*. The results showed that most infected dogs have serum titers of 1:100 (47.1%) and 1:1600 (17.65%). The highest contamination was with *Canicula* serovars with 70.6% and *Harjo* 11.76%, and *Gripotyphosa*, *Pomona* and *Icterohemorrhagia* serovars were in the next positions. Among the positive samples, three samples were related to female dogs and 12 samples belonged to male dogs, and the result of Chi square test showed that there is a significant relationship between gender and serum contamination ($p<0.05$). Also, 8 samples belonged to the age groups above 3 years and 7 samples belonged to the age groups less than 3 years, and there was no significant relationship between age groups and the positive results ($p>0.05$). Presence of serum contamination among the population of stray dogs in Qazvin can lead to a high prevalence of clinical infection in owned dogs and domestic and wild animals especially sheep flocks, which may also affect public health due to the zoonotic nature of the disease.

Conflict of interest: None declared.
Key words: Dog, Leptospirosis, MAT, Qazvin, Seroepidemiology.