

بررسی سرو اپیدمیولوژی لپتوسپیروز در اسب‌های اطراف شهر رشت

ارغوان شفایی^۱، جلال شایق^{۱*}، غلامرضا عبدالله پور^۲

۱- دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شبستر، شبستر، ایران

۲- گروه بیماریهای داخلی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۰۱

چکیده

لپتوسپیروز یکی از خطرناک‌ترین بیماری‌های باکتریایی زئونوز است که هم انسان و هم حیوانات را تحت تأثیر قرار می‌دهد. با توجه به اهمیت این بیماری در اسب‌ها در مناطق شمالی کشور، از جمله شهر رشت، و این واقعیت که اسب‌ها میزبان برخی از سروتیپ‌های لپتوسپیرا هستند، این مطالعه با هدف انجام یک بررسی سرولوژیک-اپیدمیولوژیک از لپتوسپیروز در اسب‌های اطراف رشت با استفاده از تست میکروآگلوتیناسیون (MAT) انجام شد. نمونه‌ها از ۱۲۹ اسب جمع‌آوری شدند. پس از جداسازی سرم، نمونه‌ها به آزمایشگاه تحقیقات لپتوسپیروز دانشگاه تهران ارسال شدند تا آزمایش‌های سرولوژیک و ارزیابی انجام شود. نتایج نشان داد که از ۱۲۹ نمونه، ۱۷ نمونه (۱۳/۷٪) واکنش مثبت به سروتیپ‌های لپتوسپیرا داشتند. شایع‌ترین سروتیپ، گریپوتیفوزا (۴/۶۵٪) بود، در حالی که کم‌شیوع‌ترین سروتیپ‌ها ایکتره‌مورائیه و کنیکولا بودند که هر دو با فراوانی ۲/۳۲٪ مشاهده شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که لپتوسپیروز یک مشکل مهم در جمعیت اسب‌های رشت و مناطق اطراف آن است. اسب‌ها می‌توانند به عنوان میزبان برخی از سروتیپ‌های لپتوسپیرا عمل کنند. بنابراین، ضروری است که مسئولین سلامت حیوانات و کنترل بیماری‌ها اقدامات لازم را برای پیشگیری و کنترل لپتوسپیروز در جمعیت اسب‌های این شهر انجام دهند.

کلمات کلیدی: لپتوسپیروز، اسب، تست میکروآگلوتیناسیون، رشت

* نویسنده مسئول: جلال شایق

آدرس: دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شبستر، شبستر، ایران

پست الکترونیک: Jalalshayegh@iau.ir

مقدمه

لپتوسپیروز یک بیماری عفونی و زئونوز با انتشار جهانی است که نشخوارکنندگان، تک سمی ها، شتر، جوندگان و حتی انسان به آن حساس هستند (Abdollahpour, 2016). عامل ایجاد بیماری باکتری گرم منفی لپتوسپیرا است که طبق آخرین طبقه بندی در سایت www.bacterio.net حاوی ۸۷ گونه بوده که دو گونه لیتوسپیرا انتروگانس (گونه بیماری زا) و لپتوسپیرا بیفلیکسا (گونه ساپروفیت) جز گونه های شاخص این جنس در پزشکی و دامپزشکی می باشد (Rycroft, 2024). اهمیت فراوان این بیماری از دو منظر اقتصادی و بهداشت عمومی مطرح است، زیرا این بیماری سبب مشکلات عمده ای در صنعت دامپروری شده است، از جمله این مشکلات می توان به مرده زایی، سقط، کاهش میزان تولید شیر، هموگلوبینوری و زردی اشاره کرد. شایان ذکر است که این بیماری در اسب در اکثر مواقع به شکل مزمن و خفیف به ویژه همراه با چشم درد دوره ای، کوری و سقط جنین می شود (Abdollahpour et al., 2009). در نتیجه هزینه های لازم جهت پیشگیری، کنترل و درمان لپتوسپیروز به اهمیت بررسی این بیماری می افزاید. بر اساس مطالعات انجام شده، این بیماری در کشور ما نیز رو به گسترش است که بهداشت عمومی و تولیدات دامی کشور را تهدید می کند.

در طبیعت هر حیوانی میزان نگهدارنده سروتیپ خاصی است. برای مثال گاو میزان نگهدارنده سروتیپ هارجو، سگ میزان نگهدارنده سروتیپ کنیکولا، گراز و خوک میزان نگهدارنده سروتیپ پومونا و موش میزان نگهدارنده سروتیپ ایکتره مو راژیه است. اسب نیز میزان نگهدارنده سروتیپ براتیسلاوا است. ممکن است این میزان ها در هر منطقه جغرافیایی بعد از مدتی از یک سویه خاص با یک گونه حیوانی هماهنگ شود و از

آن به عنوان مخزن نگهدارنده استفاده کنند. چنانچه همین سروتیپ وارد بدن میزبان تصادفی گردد می تواند سبب عفونت شود (Abdollahpour, 2016). انسان همواره میزبان تصادفی برای سروتیپ های مختلف لپتوسپیرای محسوب می شود. لپتوسپیرا از پرندگان، خزندگان، دوزیستان و بی مهرگان جدا شده است. از این میان جوندگان، مهم ترین و گسترده ترین مخازن این باکتری هستند و گوشتخواران وحشی در درجه دوم اهمیت قرار دارند (Eydi et al., 2017). در نهایت در هر منطقه جغرافیایی و به خصوص در بروز همه گیری ها در انسان، یافتن حیوانات مخزن و ارتباط آن ها با لپتوسپیروز بسیار ضروری است به این علت که هر حیوان آلوده ای می تواند منشأ آلودگی سایر حیوانات و یا انسان باشد (Ramin et al., 2013; Zahraie Salehi and Shayegh, 2007). مهم ترین راه انتقال لپتوسپیروز در انسان، تماس مستقیم و غیرمستقیم با حیوانات آلوده یا ترشحات آنها است (Zakeri et al., 2010).

مطالعات سرمی در ایران بیانگر حضور لپتوسپیرا در نشخوارکنندگان و تک سمیان است به ویژه حاشیه دریای خزر در استان گیلان، شرایط جلگه ای و آب و هوای معتدل و مرطوب، زمینه زیست و شیوع ای باکتری را فراهم می سازد (New et al., 1993; Rafiei et al., 2012). از این رو به دلیل اهمیت بالای بیماری در ایران و به ویژه در استان گیلان، هدف از این تحقیق بررسی سرواپیدمیولوژیک لپتوسپیروز در اسب های رشت است.

مواد و روش ها

در طی تیرماه تابستان سال ۱۴۰۱ تا اواخر مرداد ماه همان سال با همکاری شبکه دامپزشکی شهر رشت تعداد ۱۲۹ نمونه سرمی از اسب های باشگاه های سوارکاری شهر رشت و اسب هایی که به طور آزاد در باغ های اطراف این شهر نگهداری می شدند، جمع آوری گردید. این



نمونه‌های سرمی با آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی (MAT) با استفاده از ۵ نوع آنتی ژن لپتوسپیرائی شامل سروتیپ‌های کانیکولا، گریپوتیفوزا، پومونا، هارجو و ایکتره‌موراژیه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

شایان‌ذکر است که از فرمول برآورد حجم نمونه $n = (z^2 pq) / d^2$ با ضریب اطمینان ۹۵٪ در این پژوهش استفاده شد و طبق فرمول تعداد نمونه‌ها، ۱۲۹ نمونه برآورد شد.

$$p = 0.5 \quad q = 0.5 \quad d = 0.086$$

پس از خون‌گیری، لوله‌های موردنظر کدگذاری شده و کد موردنظر در فرم مخصوص مشخصات همراه با وضعیت ویژه هر دام ثبت گردید. جهت نگهداری کوتاه‌مدت میکروتیوب‌های حاوی سرم به یخچال ۴ درجه سانتیگراد و به‌منظور نگهداری بلندمدت به فریزر ۱۸- درجه سانتیگراد منتقل شدند و سپس انتقال نمونه‌ها به‌منظور انجام تست میکروآگلوتیناسیون به آزمایشگاه تحقیقاتی لپتوسپیروز واقع در بیمارستان آموزشی و پژوهشی محمد شهر دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران صورت گرفت. اولین مرحله از این آزمایش جداسازی آنتی‌ژن‌هاست. در مطالعه حاضر از پنج سروتیپ لپتوسپیرا با تراکم استاندارد 2×10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر استفاده شده است. در ضمن تراکم باکتری‌ها در نمونه‌ای که از محیط برداشت می‌شود به کمک میکروسکوپ زمینه تاریک و با استفاده از لام مخصوص شمارش باکتری ارزیابی شده و در صورتی که تراکم باکتری‌ها بیش از حد استاندارد باشد به آن مقدار مناسب محیط رقیق‌کننده استریل اضافه می‌شود. تعداد باکتری توسط لام مخصوص شمارش لپتوسپیرا شمارش شده و رقت آن با افزودن PBS در حد موردنظر تنظیم شد. مرحله بعدی تهیه رقت ۱:۵۰ از سرم‌های مورد آزمایش است. در این مرحله از هر نمونه سرم رقت ۱:۵۰ تهیه گردید.

به‌این ترتیب که به میزان ۹۸۰ میکرولیتر PBS به درون میکروتیوب انتقال داده شد، سپس ۲۰ میکرولیتر از سرم مورد آزمایش به آن افزوده، به‌این ترتیب رقت ۱:۵۰ از سرم مورد آزمایش به دست آمد. آزمایش MAT به‌طور کلی مطابق با روش پیشنهادی WHO و با اندکی تغییرات در آزمایشگاه تحقیقاتی لپتوسپیروز واقع در بیمارستان آموزشی و پژوهشی محمد شهر دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام گردیده و جزئیات آزمایش به شرح زیر است:

۱- ۱۰ میکرولیتر از میکروتیوب حاوی آنتی‌ژن در هر مربع لام به‌صورت قطره‌ای کوچک قرار داده شد. ۸ بار این کار تکرار می‌شود تا در نهایت در هر مربع یک قطره آنتی‌ژن قرار داشته باشد.

۲- ابتدا سرسمپلر تعویض گردید، سپس ۱۰ میکرولیتر از هر یک از ۸ نمونه سرم مورد آزمایش، با رقت ۱:۵۰ به شکل قطره‌ای دیگر، در مجاورت قطره آنتی‌ژن قرار داده شد. در انتهای این مرحله رقت نهائی ۱:۱۰۰ از هر یک از نمونه‌های سرمی در مجاورت آنتی‌ژن به دست آمد. لازم به ذکر است که در هر لام ۸ نمونه سرمی، مطابق با تعداد مربع‌ها، قابل بررسی است که همگی هر بار تنها با یک سروتیپ مشخص مجاور می‌گردند. برای آزمایش سروتیپ‌های دیگر، آزمایش تکرار می‌شود.

۳- پس از مخلوط کردن هر ۸ نمونه سرمی با آنتی‌ژن موردنظر، به‌منظور جلوگیری از خشک شدن مخلوط آنتی‌ژن و آنتی‌بادی، بلافاصله لام در داخل بوات به روی پایه‌های شیشه‌ای قرار داده شد.

۴- بوات دوپتری برای مدت ۹۰ دقیقه در گرم‌خانه با دمای ۳۰ درجه سانتیگراد، برای ایجاد دمای مناسب به‌منظور واکنش آنتی‌ژن و آنتی‌بادی قرار داده شد.

۵- سپس با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ تمام قسمت‌های هر قطره موجود در هر مربع، مورد بررسی قرار داده می‌شوند.



تعداد	درصد	
۶	۴۶۵	گریپوتیفوزا
۵	۳۸۸	هارجو
۳	۲۳۲	کانیکولا
۳	۲۳۲	ایکتروهموراژیه

بررسی‌های آماری هیچ ارتباط معناداری میان جنسیت (جدول ۳)، سن (جدول ۴) و محل نگهداری (جدول ۵) با میزان شیوع بیماری در منطقه مورد مطالعه را نشان نمی‌دهد.

جدول ۳. بررسی توزیع فراوانی ابتلا به بیماری در اسب‌های مورد تحقیق بر حسب جنسیت

جنس	تعداد	درصد	مثبت	تعداد	درصد	منفی	جمع کل
نریان	۶	۴/۶۵	۴۵	۳۴/۸۹	۵۱	۳۹/۵۴	
مادیان	۱۱	۸/۵۲	۶۷	۵۱/۹۴	۷۸	۶۰/۴۶	
جمع	۱۷	۱۳/۱۷	۱۱۲	۸۶/۸۳	۱۲۹	۱۰۰	

جدول ۴. بررسی توزیع فراوانی ابتلا به بیماری در اسب‌های مورد تحقیق بر حسب سن

گروه سنی	تعداد کل	تعداد مثبت	درصد مثبت	تعداد منفی	درصد منفی
۱ تا ۳	۴۰	۶	۴/۶۵	۳۴	۲۶/۳۵
۳ تا ۶	۴۸	۴	۳/۱۰	۴۴	۳۴/۱۰
۶ تا ۹	۲۵	۴	۳/۱۰	۲۱	۱۶/۲۸
بالای ۹	۱۶	۳	۲/۳۲	۱۳	۱۰/۰۷
جمع	۱۲۹	۱۷	۱۳/۱۷	۱۱۲	۸۶/۸۳

جدول ۵. بررسی توزیع فراوانی ابتلا به بیماری در اسب‌های مورد تحقیق بر حسب محل نگهداری

محل نگهداری	تعداد کل	تعداد مثبت	درصد مثبت	تعداد منفی	درصد منفی
باغ	۷۴	۱۱	۸/۵۲	۶۳	۴۸/۸۴
باشگاه	۵۵	۶	۴/۶۵	۴۹	۳۷/۹۹

بحث و نتیجه‌گیری

بر پایه استاندارد WHO نمونه‌های با درجه آگلوتیناسیون ۱+ منفی، با درجه آگلوتیناسیون ۲+ مشکوک، و با درجه آگلوتیناسیون ۳+ و ۴+ مثبت در نظر گرفته شدند. در مرحله دوم آزمون آگلوتیناسیون میکروسکوپی در نمونه‌های سرمی با درجه آگلوتیناسیون ۳+ و ۴+ با روش تیتراسیون، تیتراهای سرمی بیش از ۱:۱۰۰ جست‌وجو گردید.

آنالیز آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS استفاده می‌گردد. در این تحقیق ارتباط بین میزان شیوع لپتوسپیروزیس با جنسیت، سن و محل نگهداری اسب‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

در طی بررسی انجام شده از مجموع ۱۲۹ نمونه اخذ شده از اسب‌های منطقه تعداد ۱۷ نمونه (۱۳،۱۷٪) از نظر میکرو آگلوتیناسیون مثبت ارزیابی شدند (نمودار ۱-). نمونه‌ها به ترتیب شامل سروتیپ‌های گریپوتیفوزا، هارجو، ایکتروهموراژیه و کانیکولا بودند. بیشترین واکنش مثبت سرمی مربوط به سروتیپ گریپوتیفوزا با ۴،۶۵ درصد و پس از آن کمترین واکنش مثبت سرمی مربوط به سروتیپ‌های ایکتروهموراژیه و کانیکولا که هر دو ۲،۳۲ درصد را شامل می‌شوند، می‌باشد. سروتیپ هارجو نیز ۳،۸۸ درصد را شامل می‌شود، شایان ذکر است که سروتیپ پومونا هیچ سهمی از ۱۷ نمونه مثبت را به خود اختصاص نداشت.

جدول ۱: توزیع فراوانی و درصد نمونه‌های مثبت و منفی با آنتی ژن‌های مورد استفاده در کل دام‌ها

مثبت	منفی	جمع کل
۱۷	۱۱۲	۱۲۹
٪۱۳،۱۷	۸۶،۸۳	۱۰۰

جدول ۲. بررسی تعداد و درصد فراوانی سروتیپ‌های لپتوسپیرو

نام سروتیپ موارد واکنش سرمی مثبت



در مطالعه حاضر ارتباط آماری معنی‌داری بین جنسیت، سن و محل نگهداری با میزان آلودگی به لپتوسپیروزیس مشاهده نگردید. علی‌رغم نتایج این مطالعه در مطالعات داخلی و خارجی حداقل ارتباط معنادار بین آلودگی و جنسیت نشان داده شده است. برخی این تفاوت را به شرایط فیزیولوژی و هورمونی جنس ماده نسبت داده‌اند، مطالعات حاکی از وجود اختلاف معنادار میزان آلودگی با سن دارد طوریکه با افزایش سن میزان آلودگی بیشتر می‌شود و بیشترین آلودگی را در اسب‌های بالای ۱۰ سال گزارش کرده‌اند (Zaman et al., 2020). این بیماری خسارات زیادی را به سیستم دامپروری کشور تحمیل می‌کند که ناشی از مرگ دام، کاهش تولید شیر، سقط جنین و سایر اختلالات تولیدمثلی است (Abdollahpour, 2016). از سوی دیگر مشترک بودن لپتوسپیروز بین انسان و دام و انتقال بیماری از این طریق به انسان، اهمیت این بیماری را دوچندان می‌کند که نیاز به تأمل و تدبیر راهکارهایی برای کنترل عفونت و تأمین بهداشت عمومی دارد (Malalana et al., 2017).

لپتوسپیروزیس یکی از مهم‌ترین بیماری‌های مشترک بین انسان و حیوان همراه با طیف گسترده شیوع در نقاط مختلف جهان است. در کشور ما مطالعات متعددی که در دهه اخیر انجام شده است که بیانگر افزایش شیوع این بیماری و افزایش تنوع سروتیپ‌های موجود در کشور ما از ۸ سروتیپ به ۱۲ سروتیپ است (Khalili et al., 2020; Chavez-Sanchez et al., 2021; Hedayati and Bahmani 2023).

مطالعه حاضر اولین مطالعه مستقل در شهر رشت بر روی اسب جهت بررسی نقش آن در اپیدمیولوژی بیماری لپتوسپیروزیس است. وضعیت اقلیمی مساعد شهر رشت و استان گیلان از نظر بارندگی فراوان و برخورداری از آب و هوای مرطوب و معتدل اهمیت مطالعه را بالا می‌برد چرا که مناطق دارای آب و هوای معتدل و بارانی، نظیر استان‌های شمالی کشورمان مستعد بیماری یاد شده هستند (Eydi et al., 2017). استان گیلان به دلیل آب و هوای معتدل و بارانی و وجود مزارع وسیع شالیزار یکی از استان‌های مستعد جهت شیوع بعضی از بیماری‌ها از جمله لپتوسپیروزیس می‌باشد که عامل آن نیاز به محیط مرطوب و پربارش دارد (Constable et al., 2016). آلوده بودن آب‌های سطحی استان به سروارهای مختلف لپتوسپیروز در استان گیلان و اهمیت این بیماری در این استان سابق بر این مورد تأکید قرار گرفته است (Anari et al., 2023).

میزان شیوع سرمی بیماری در این مطالعه ۱۳/۱۷٪ گزارش شده است. مطالعه دیگر در ایران شیوع‌های مختلفی را در اسب گزارش نموده‌اند از جمله در بررسی در استان البرز این میزان ۳۷/۷٪، شهر تال (تالش) ۳۸/۳۳٪، اسب‌داری‌های اطراف تهران ۱۵/۱۳٪، منطقه گنبد کاووس ۱۲٪، لرستان ۱۸/۳۸٪، خوزستان ۲۷/۸۸٪، گلستان ۷/۷٪، کردستان ۹/۶٪، اردبیل ۷/۷٪، استان آذربایجان غربی ۱۶/۳٪ و در آذربایجان شرقی ۳۹/۱۸٪ گزارش گردیده است (Khoushheh et al., 2012; HAJI et al., 2016; Zaman, Hassanpour and Abdollahpour 2020; Hashemi et al., 2021; Jeddi et al., 2022; Maleki et al., 2021; Ramin et al., 2023).

این تنوع نشان از اکولوژی متفاوت بیماری تحت تأثیر جغرافیا و تنوع میزبان مخزن دارد طوریکه احتمالاً اهمیت اسب به عنوان میزبان مخزن در شهر رشت و بروز عفونت لپتوسپیروز در آن کمتر از سایر میزبان‌ها است. سروتیپ‌های مورد مشاهده در مطالعه حاضر شامل سروتیپ‌های گریپتوفوزا (۴/۶۵٪)، هارجو (۳/۸۸٪)، ایکتروهموراژیه (۲/۳۲٪) و کانیکولا (۲/۳۲٪) گزارش



شده است. در این مطالعه گریپتوتیفوزا به عنوان سروتیپ شایع تشخیص داده شد.

همچنین این سروار در شهرستانهای تالش و طارم که از نظر نزدیکی و آب و هوای به استان گیلان مشابه دارند. نیز سروار غالب است. هر چند سروارهای غالب مناطق مختلف دیگر با الگوی به دست آمده در اسبهای شهر رشت متفاوتند چنانکه در تبریز پومونا، در ارومیه هارجو و گریپتوتیفوزا، در لرستان کانیکولا و گریپتوتیفوزا، در گنبد کانیکولا و در اسبهای اطراف تهران ایکترهمورازیه سروتیپ غالب می باشند (Vandyousefi 1994; Tabatabayi and Firouzi 2001; Ali and Saeid 2012; JAHED and Hassanpour 2013; Yasouri., Ghane, Doudi, Rezaei, and Naghavi, 2020 Varzegar et al., 2021; Ramin et al., 2023;). در مطالعه دیگری که در استان گیلان بر روی جمعیت گاوها انجام شده است سروارهای کانیکولا، پومونا و گریپتوتیفوزا را به عنوان سروتیپ غالب مورد تاکید قرار داده است. این امر امکان متفاوت بودن الگوی حضور سروتیپ ها در میزبانهای یک منطقه جغرافیای را می تواند تایید نماید. اگر چه میزبان مخزن سروارها از منطقه ای به منطقه دیگر متغیر است. اما بیشترین گزارش ها از مخزن بودن جوندگان برای سروار گریپتوتیفوزا حکایت دارد. که این خود می تواند به بررسی نقش جوندگان در آلودگی میزبانهای دیگر منطقه اشاره نماید این ادعا نیاز به مطالعات تکمیلی دارد (Ahangarcani et al., 2019)

در این مطالعه از مجموع نمونه های مثبت سرمی، ۱۱ نمونه (۸/۵۲٪) مربوط به مادین و ۶ نمونه (۴/۶۵٪) مربوط به نریان بود و اختلاف معنی داری بین جنسیت و شیوع بیماری در منطقه یافت نشد. در مطالعه ای در استان اردبیل از مجموع ۷ نمونه مثبت از جمعیت ۹۰ تایی اسبها، ۵ نمونه مربوط به نریان و ۲ نمونه مربوط به

مادین گزارش شد (Khoushheh et al., 2012)، در حالی که در مطالعه ای در بین اسبهای شهرستان تال میزان شیوع سرمی عفونت لپتوسپیروزی در بین اسبها ۳۳/۳۸٪ بود و ۳۵٪ از اسبهای نر و ۴۵٪ از اسبهای ماده از لحاظ سرولوژیکی مثبت بودند و اختلاف معنی داری بین آلودگی سرولوژیک اسبهای نر و ماده وجود داشت (Yasouri et al., 2020). در مطالعه ای در استان لرستان که بر روی تک سمیان صورت گرفت، نشان داده شد بین گونه های مختلف تک سمیان از نظر آلودگی سرمی اختلاف آماری وجود دارد. ارزیابی آماری و نتایج نشان داد فراوانی واکنش سرمی در اسبهای نر ۹۷۶ درصد و در اسبهای ماده ۲۴/۹۰ درصد است، اما در قاطر و الاغ هیچ مورد مثبتی از واکنش سرمی بر علیه سروارهای مختلف لپتوسپیروزی اینتروگانس در جنس نر دیده نشد و مشخص شد بین جنس نر و ماده در گونه های مختلف تک سمی از نظر آماری اختلاف معنی داری وجود دارد (Anari et al., 2023).

در مطالعه حال حاضر، ۶ نمونه (۴/۶۵٪) مثبت در رده سنی ۱ تا ۳ سال، ۴ نمونه (۳/۱٪) مثبت در رده سنی ۳ تا ۶، ۴ نمونه (۳/۱٪) مثبت متعلق به رده سنی ۶ تا ۹ سال و ۳ نمونه (۲/۳۲٪) مثبت مربوط به گروه سنی ۹ سال به بالا بودند و ارتباط معنی داری بین سن و شیوع بیماری یافت نشد در حالی که در مطالعه ای در شهر گنبد نتایج نشان دادند بیشترین فراوانی نمونه های مثبت دامی در محدوده سنی ۳ تا ۶ سال قرار داشتند. به عبارتی دیگر با افزایش سن حیوانات، میزان شیوع این بیماری هم افزایش یافته است. پس باتوجه به نتایج به دست آمده، افزایش سن حیوانات، می تواند به عنوان یکی از فاکتورهای خطر رخداد شیوع سرولوژیک لپتوسپیروز مورد اهمیت و تأکید قرار داد (Jahed and Hassanpour, 2013). در مطالعه ای در استان اردبیل، ۷۷٪ از جمعیت ۹۰ تایی



بالای آبهای سطحی و موارد ابتلا در این منطقه لزوم بررسی سایر میزبانها بمانند جوندگان، سگها و نشخوارکنندگان و غیره اهمیت فراوانی دارد.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان نامه نویسنده اول است. نویسندگان از مساعی همکاران دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و نیز معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر نهایت امتنان را دارند.

منابع

1. Abdollahpour, G. R. (2016). *Leptospirosis* (1st ed., pp. 46-61). Tehran University. (In Persian)
2. Abdollahpour, G. R., Shafighi, S. T., & Satari, T. S. (2009). Serodiagnosis of leptospirosis in cattle in north of Iran, Gilan. *International Journal of Veterinary Research*, 3(1), 7-10.
3. Ahangarcani, M., Farnaghi, M., Shirzadi, M. R., Pilesjö, P., & Mansourian, A. (2019). Predictive risk mapping of human leptospirosis using support vector machine classification and multilayer perceptron neural network. *Geospatial Health*, 14(1), 53-61.
4. Ali, H., & Saeid, S. (2012). Seroprevalence of leptospiral infection in horses, donkeys and mules in East Azerbaijan province. *African Journal of Microbiology Research*, 6(20), 4384-4387.
5. Anari, S., Jaydari, A., Shams, N., & Rahimi, H. (2023). Molecular detection of *Leptospira* spp. isolated from aborted ovine genital swabs in Lorestan, Iran, 2019-2020. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, 17(1), 107-111.
6. Chavez-Sanchez, J. F., Galaviz-Silva, L., Molina-Garza, Z. J., Zapata-Benavides, P., Cedillo-Rosales, S., & Avalos-Ramírez, R. (2021). Seroprevalence and risk factors associated with leptospirosis in small ruminants in a semi-arid area of Mexico. Available at SSRN 4498252.

اسب‌ها واکنش سرمی مثبت نشان دادند، ۱۴،۲۸٪ از نمونه‌ها مربوط به گروه سنی یک تا سه سال، ۴۲،۸۵٪ نمونه‌ها در رده سنی ۳ تا ۶ سال، ۲۸،۸۵٪ نمونه‌ها در رده سنی ۶ تا ۹ سال و ۱۴،۲۸٪ از اسب‌ها مربوط به ۹ سال به بالا بودند (Jeddi et al., 2022; Khousheh et al., 2012). در مطالعه‌ای در استان لرستان به دنبال گروه‌بندی تک سمیان به ۴ گروه سنی مشخص شد ۷،۳۲ درصد از اسب‌های مبتلا زیر ۴ سال، ۷،۳۲ درصد ۴ تا ۷ سال، ۲۴،۳۹ درصد ۷ تا ۱۰ سال و ۶۰،۹۷ درصد بالای ۱۰ سال سن داشتند. از این نظر بین گروه سنی کم‌تر از ۷ سال با گروه‌های سنی بالاتر از ۷ سال اختلاف آماری معنی‌داری برقرار بود (Maleki et al., 2021). در این مطالعه از مجموع ۱۲۹ نمونه، ۱۷ نمونه (۱۳،۱۷٪) واکنش سرمی مثبت نشان دادند. از این ۱۷ نمونه، ۱۱ نمونه (۸،۵۲٪) مربوط به جمعیت مادیان و ۶ نمونه (۴،۶۵٪) مربوط به نریان بود. ۶ نمونه مثبت مربوط به گروه سنی ۱ تا ۳ سال، ۴ نمونه در گروه سنی ۳ تا ۶ سال، ۴ نمونه مربوط به ۶ تا ۹ سال و ۳ نمونه بالای ۹ سال بودند. از نظر محل نگهداری، ۱۱ نمونه (۸،۵۲٪) با واکنش سرمی مثبت در باغ و ۶ نمونه (۴،۶۵٪) در باشگاه بودند. سوابق موجود در مراکز علمی کشور حاکی از آن است که این عفونت در اکثر نقاط ایران به‌عنوان یکی از مشکلات دامداری‌ها مطرح است. عفونت با سروتیپ‌های مختلف لپتوسپیرا در مناطق جغرافیایی مختلف بر روی اپیدمیولوژی و پاتوژنز بیماری اهمیت دارد.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج حاصل از این بررسی و بررسی‌های مشابه بر روی دامها، می‌توان به این نکته پی برد که میزان نمونه‌های با واکنش سرمی مثبت، پایین‌تر از میزان مورد انتظار در اسب به دست آمده است. با توجه به آلودگی



15. Malalana, F., Blundell, R. J., Pinchbeck, G. L., & McGowan, C. M. (2017). The role of *Leptospira* spp. in horses affected with recurrent uveitis in the UK. *Equine Veterinary Journal*, **49**(6), 706-709.
16. Maleki, S., Zakian, A., & Abdollahpour, G. (2021). Seroprevalence of *Leptospira interrogans* infection in equids of Lorestan Province: Investigation the role of probable risk factors. *Iranian Veterinary Journal*, **16**(4), 108-118.
17. New Jr, J. C., Wathen, W. G., & Dlutkowski, S. (1993). Prevalence of leptospira antibodies in white-tailed deer, Cades Cove, Great Smoky Mountains National Park, Tennessee, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, **29**(4), 561-567.
18. Rafiei, A., Babamahmoodi, F., Alizqadeh Navaee, R., & Valadan, R. (2012). Review of leptospirosis in Iran. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, **22**(94), 102-110.
19. Ramin, A., Abdollahpour, G. H., & Irannejad, S. (2013). Determination of seroprevalence of *Leptospira* serotypes in Urmia equine. *Iranian Journal of Veterinary Clinical Sciences*, **7**(1), 59-66.
20. Ramin, A., Abdollahpour, G., Hosseinzadeh, A., Azizzadeh, F., Ramin, P., Sanajo, D., & Nezhad, S. I. (2023). Comparison of anti-*Leptospira* antibodies by microscopic agglutination test in ruminants and equines of Urmia, Iran. In *Veterinary Research Forum*, **14**(4), p. 229.
21. Rycroft, A. N. (2023). *Fundamentals of Veterinary Microbiology*. John Wiley & Sons.
22. Tabatabayi, A. H., & Firouzi, R. (2001). *Diseases of Animal Due to Bacteria* (pp. 431-445). Tehran University Press. (In Persian)
23. Vandyousefi, J. (1994). New findings of leptospirosis in Razi Vaccine Institute. *Pajouhesh va Sazandeghi Journal*, **25**, 72-75. (In Persian)
24. Varzegar, P., Bayani, M., Kalantari, N., Nasiri-Kenari, M., Navaie, B. A., Mollalo, A., & Rostami, A. (2021).
7. Eydi, J., Golchin, M., Sakhaee, E., Amiri, H. R., & Fayed, M. R. (2017). Detection of equine leptospiral antibodies by latex agglutination test in Iran. *Comparative Clinical Pathology*, **26**, 647-650.
8. Haji, H. M., Nafisi, M. A., Lotfollazadeh, S., Ghorbanpour, M., & Abdollahpour, G. (2016). Seroprevalence of *Leptospira interrogans* infection in horses from some horse clubs in Tehran by microscopic agglutination test (MAT). *Veterinary Clinical Pathology The Quarterly Scientific Journal*, **4**(9), 347-365.
9. Hashemi, S. A., Arzamani, K., Abdollahpour, G., Beheshti, N., Alavinia, M., Azimian, A., Neela, V. K., van Belkum, A., & Ghasemzadeh-Moghaddam, H. (2021). Seroprevalence of *Leptospira* infection in occupational risk groups in North Khorasan province, Iran. *Heliyon*, **7**(1).
10. Hedayati, M. A., & Bahmani, N. (2023). Most important bacterial and parasitic zoonotic diseases in Iran. *Reviews and Research in Medical Microbiology*, **34**(1), 12-21.
11. Jahed, D. O., & Hassanpour, A. (2013). Survey of risk factors for the prevalence of leptospiral infection in horses of Gonbad area. *Veterinary Clinical Pathology The Quarterly Scientific Journal*, **7**(26), 1844-1907.
12. Jeddi, M., Hassanpour, A., & Moghaddam, S. (2022). Seroepidemiological analysis of leptospirosis in sheep in Meshginshahr city, Iran using microscopic agglutination test. *Journal of Zoonotic Diseases*, **6**(1), 17-24.
13. Khalili, M., Sakhaee, E., Amiri, F. B., Safat, A. A., Afshar, D., & Esmaeili, S. (2020). Serological evidence of leptospirosis in Iran; A systematic review and meta-analysis. *Microbial Pathogenesis*, **138**, 103833.
14. Khoushah, Y., Hassanpour, A., Abdollahpour, G., & Moghaddam, S. (2012). Seroprevalence of leptospira infection in horses in Ardabil-Iran. *Global Veterinaria*, **9**(5), 586-589.



27. Zakeri, S., Khorami, N., Ganji, Z. F., Sepahian, N., Malmasi, A. A., Gouya, M. M., & Djadid, N. D. (2010). *Leptospira wolffii*, a potential new pathogenic *Leptospira* species detected in human, sheep and dog. *Infection, Genetics and Evolution*, **10**(2), 273-277.
28. Zaman, N., Hassanpour, A., & Abdollahpour, G. (2020). Serologic prevalence of leptospiral infection in the horses in Kurdistan Province in Iran. *Journal of Zoonotic Diseases*, **4**(2), 25-38.
- Seroprevalence of *Strongyloides stercoralis* among patients with leptospirosis in northern Iran: A descriptive cross-sectional study. *Journal of Helminthology*, **95**, e34.
25. Yasouri, S. R., Ghane, M., Doudi, M., Rezaei, A., & Naghavi, N. S. (2020). A study of leptospirosis epidemiology in Iran and diagnostic techniques for human, livestock and environment samples. *Medical Laboratory Journal*, **14**(6).
26. Zahraie Salehi, J., & Shayegh, T. (2007). *Veterinary Microbiology and Microbial Diseases* (1st ed.). Tehran University. (In Persian)



A sero-epidemiologic study of leptospirosis in horses in Rasht

Argavan Shafaei¹, Jalal shayegh^{*1}, Gholamreza Abdollahpour²

¹Department of Veterinary Medicine, Shab.C, Islamic Azad Univesrity, Shabestar, Iran

²Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 19 Feburary 2025 Accepted: 23 July 2025

Abstract

Echinococcosis is one of the common parasitic diseases between humans and animals, whose symptoms appear with the long-term growth of the babies of this cestode in the body of the intermediate host, generally ruminants, and humans are known as the accidental and final host for this parasite. Although this disease in It is not reported in some countries, it has a global distribution, and considering the zoonotic importance of this disease, it is necessary to know the strains and determine the level of infection with this parasite in the intermediate hosts, because the interruption of the developmental cycle of the parasite in the intermediate hosts and the final host is very important and also this parasite has a number of species or strains within the species that this genetic diversity can be potentially important in epidemiology and disease control and making vaccines and therefore the study of mitochondrial DNA sequence and phylogenetic studies based on The DNA of this cestode is very important. 244 samples from ruminants (sheep, cows, camels, and goats) slaughtered in the industrial slaughterhouses of Isfahan province (61 infected liver samples, including two groups of 31 males and 30 females) were collected during the period from April to September of 2022 and After preparing protoscoleces from the existing hydatid cysts, DNA was extracted using a DNA extraction kit, PCR reaction using primers BD1 (Forward) and 4S (Reverse) which can amplify the ribosomal genome of the rDNA-ITS1 region. and led to the production of a PCR product with a length of 1000bp was used and subjected to enzymatic digestion (PCR-RFLP) using endonuclease enzymes AluI, RsaI, HpaII, and TaqI and finally the results were obtained using SPSS version 24 software and with Chi-square test (X^2) was used for statistical analysis and the significance level of the research ($P < 0.05$) was considered. The results show definite contamination with *E. granulosus* and sheep strain (G1) caused by the sheep-dog cycle in all the samples obtained from the liver of ruminants, and in the comparison and statistical analysis, there is a significant difference between the type of contamination with different strains between There was no male or female sex. This study can confirm the previous results about the predominance of the sheep strain in Iran, so it is recommended to pay special attention to this issue in order to control and prevent the transmission of this parasite in the sheep-dog cycle.

Keywords: *Echinococcus granulosus*, hydatid cyst, strain determination, Isfahan, Iran

* Corresponding Author: Jalal shayegh

Address: Department of Veterinary Medicine, Shab.C, Islamic Azad Univesrity, Shabestar, Iran

Email: Jalalshayegh@iau.ir

