

Serological study of leptospirosis in slaughtered cows of Guilan province during 2023

Ranjbar niaki, N.¹, Abdollahpour, G.^{2*}, Zahraei Salehi, T.³, Bahonar, A.⁴, Khaki, P.⁵

1- Postgraduate Student of Large Animal Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

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

3- Professor, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

4- Professor, Department of Food Hygiene and Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

5- Professor, Microbiology Department, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

*Corresponding author's email: greza@ut.ac.ir

(Received: 2023/10/31 Accepted: 2024/3/10)

Abstract

Leptospirosis is a multi-faceted global disease, which causes great economic and health losses to the livestock and human population of our country each year. The northern provinces of Iran are among the rainy and humid regions of Iran, and the prevalence of waterborne diseases such as leptospirosis is high in these regions. In ruminants, cattle are more susceptible to leptospirosis than small ruminants. The purpose of this study was to determine the serological prevalence of leptospirosis in slaughtered cows in Guilan province using the standard microscopic agglutination test (MAT). For this purpose, 300 blood samples were collected from slaughtered cows in Guilan province during the spring and summer of 2023. After separating the serum and sending them to the leptospirosis research laboratory, all the samples were tested by MAT method using five serotypes of *Leptospira* Grippotyphosa, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola and Hardjo. The results of this study showed that 62 samples (20.66 percent) had anti-leptospiral antibodies against one of the above-mentioned 5 serotypes. The highest titer was related to Hardjo serotype with 37 samples (59.6 percent) and the lowest was related to Icterohaemorrhagiae serotype with 5 cases (8.06 percent). Titration of positive samples showed that 59 samples (86.8 percent) had a titer of 1:100 to 1:200 and 9 samples (13.2 percent) had a titer of 1:400. In conclusion, this study revealed that infection with *L. interrogans* is highly prevalent in slaughterhouse cows of Guilan province and the active presence of the cause of this disease in the province.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Cattle, Guilan, Leptospirosis, Microagglutination, Serology.

"مقاله پژوهشی"

DOI: 10.71499/jvcp.2024.3101439

مطالعه سرولوژیک لپتوسپیروز در گاوهای کشتارگاهی استان گیلان در سال ۱۴۰۲

نوید رنجبرنیاکی^۱، غلامرضا عبدالله پور^{۲*}، نقی زهرایی صالحی^۳، علیرضا باهنر^۴، پژواک خاکی^۵

۱- دستیار تخصصی بیماری‌های داخلی دام‌های بزرگ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

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

۳- استاد گروه میکروبیولوژی و ایمنولوژی، دانشکده، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۴- استاد گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۵- استاد بخش میکروبی‌شناسی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: greza@ut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۸/۹ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۱۲/۲)

چکیده

لپتوسپیروزیس یک بیماری چند چهره با گسترش جهانی است که همه ساله خسارات اقتصادی و بهداشتی زیادی به جمعیت دامی و نیز انسانی کشور ما وارد می‌کند. استان‌های شمالی ایران جزو مناطق پر باران و مرطوب ایران هستند و لذا شیوع بیماری‌های مرتبط با آب مانند لپتوسپیروز در این مناطق بالا می‌باشد. در بین نشخوارکنندگان، حساسیت گاو نسبت به نشخوارکنندگان کوچک در ابتلا به بیماری لپتوسپیروزیس بیشتر می‌باشد. هدف از انجام مطالعه حاضر، تعیین میزان شیوع سرولوژیک لپتوسپیروز گاوهای ارجاعی به کشتارگاه در استان گیلان با استفاده از آزمایش استاندارد آگلوتیناسیون میکروسکوپی (microscopic agglutination test; MAT) بود. بدین منظور تعداد ۳۰۰ نمونه خون از گاوهای کشتارگاهی استان گیلان در طی بهار و تابستان ۱۴۰۲ اخذ گردید. پس از جداسازی سرم و ارسال آن‌ها به آزمایشگاه تحقیقاتی لپتوسپیروز، تمامی نمونه‌ها با روش MAT و با استفاده از آنتی‌ژن‌های ۵ سروار لپتوسپیرا گریپوتیفوزا، پومونا، ایکترو هموراژی، کانیکولا و هارجو مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تعداد ۶۲ نمونه (۲۰/۶۶ درصد) واجد پادتن ضد لپتوسپیرایی علیه یکی از ۵ سروتیپ فوق‌الذکر بودند که بیشترین آن مربوط به سروتیپ هارجو با ۳۷ مورد (۵۹/۶ درصد) و کمترین آن مربوط به سروتیپ ایکترو هموراژی با ۵ مورد (۸/۰۶ درصد) بود. عبارسنجی نمونه‌های مثبت نشان داد که ۵۹ نمونه (۸۶/۸ درصد) دارای عیار ۱:۱۰۰ تا ۱:۲۰۰ و ۹ نمونه (۱۳/۲ درصد) عیار ۱:۴۰۰ داشتند. در مجموع نتایج مطالعه حاضر بیانگر بالا بودن شیوع لپتوسپیروز در گاوهای کشتارگاهی در استان گیلان و حضور فعال عامل این بیماری در سطح استان می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: لپتوسپیروز، گیلان، میکروآگلوتیناسیون، گاو، سرولوژی.

مقدمه

کارگران نیشکر و اخیراً تب ماه عسل اشاره شده که همه آن‌ها در واقع همان لپتوسپیروزیس انسانی هستند (De saint marie *et al.*, 2015, Abdollahpour, 2016). بیماری لپتوسپیروزیس در انسان بسته به نوع سرووار درگیرکننده باکتری لپتوسپیروا، سن افراد و میزان کفایت سیستم ایمنی بیمار، می‌تواند دامنه متغیری از علائم مانند یک بیماری سبک یا بیماری شبه آنفولانزا تا یک عفونت شدید همراه با اختلالات کبدی و کلیوی و نارسایی ریوی و حتی مرگ ایجاد کند که به دلیل عدم آگاهی مردم از نشانه‌های این بیماری و نیز تشابه نشانه‌های لپتوسپیروز با برخی از بیماری‌های شایع مانند آنفولانزا، تب دنگ و... و به دنبال آن عدم تشخیص به موقع و درمان مناسب، لپتوسپیروزیس می‌تواند منجر به ایجاد تلفات انسانی در کشاورزان و مخصوصاً شالیکاران شود. لذا نقش بیماری مذکور در کاهش تولیدات دامی، خسارات اقتصادی و مخاطره در بهداشت انسان‌ها، مورد توجه ویژه قرار دارد (Abdollahpour, 2016).

در بین نشخوارکنندگان حساسیت گاو نسبت به نشخوارکنندگان کوچک در ابتلا به لپتوسپیروز بیشتر است و سرووارهای لپتوسپیروا هارجو و پومونا عامل مهمی در ایجاد سقط جنین در گاو محسوب می‌شوند. منبع عفونت، معمولاً دام آلوده‌ای است که آب و مواد غذایی را از طریق ادرار، شیر، جنین سقط شده و ترشحات رحمی آلوده می‌سازد. تاکنون در بسیاری از مناطق کشور مطالعات سرولوژیک مختلفی بر روی گاو و سایر نشخوارکنندگان انجام شده است و بنا بر اطلاعات موجود، نخستین مطالعه انجام شده در مورد بیماری لپتوسپیروز در ایران، مربوط به سال ۱۳۳۶ است که توسط مقامی و همکاران انجام گرفته است و در طی

عامل بیماری لپتوسپیروزیس سروواری از باکتری لپتوسپیروا است که جنسی متعلق به خانواده لپتوسپیرواسه بوده و در راسته اسپروکتال‌ها قرار دارد (Constable *et al.*, 2017). بیماری فوق یکی از بیماری‌های عفونی قابل انتقال بین حیوان و انسان با گسترش جهانی است که طیف وسیعی از پستانداران اهلی، وحشی و نیز انسان را مبتلا می‌سازد (Costa *et al.*, 2015). تماس با مایعات بیولوژیک آلوده به باکتری مذکور در انتقال بیماری نقش دارد، اما در این میان، ادرار آلوده مبتلایان، به عنوان مهم‌ترین منبع عفونت‌زایی شناخته شده است (Constable *et al.*, 2017). همه‌گیری‌های محدود لپتوسپیروزیس معمولاً در اثر مواجهه انسان با خاک یا آب آلوده به ادرار حیوانات دچار عفونت، از طریق پوست آسیب دیده و یا سطوح مخاطی ایجاد می‌شود. البته تماس مستقیم و یا غیرمستقیم حیوانات مبتلا با افراد دارای مشاغل خاص، مانند کارکنان کشتارگاه‌ها، دامپزشکان، دامپروران و کارگران شالیزار، شانس انتقال عامل بیماری مذکور به انسان را افزایش می‌دهد. براساس آخرین بررسی‌ها، میزان متوسط گزارش سالانه بیماری در سطح جهانی در جمعیت انسانی، ۱/۰۳ میلیون نفر و موارد فوتی را ۵۸۹۰۰ مورد تخمین زده‌اند (Costa *et al.*, 2015). لپتوسپیروز، علاوه بر اهمیت بهداشتی، از جنبه اقتصادی نیز بسیار حائز اهمیت است و سبب سقط، مرده‌زایی، ناباروری، کاهش تولید شیر و مرگ و میر دام‌ها در صنعت دامپروری می‌شود (Abdollahpour, 2016). در منابع علمی به بیماری فوق به نام‌های مختلفی از قبیل سندرم ویل، تب‌پاییزی، تب کانیکولا، تب باتلاق و تب مزرعه، تب شالیزار، تب

آن، نمونه‌های سرم خون ۳ هزار رأس گاو، گوسفند و ۵ نفر شتر از مناطق مختلف استان‌های تهران، گیلان، مازندران و خراسان جمع‌آوری شده و با استفاده از آزمایش سرولوژیک MAT، مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تحقیق مذکور نشان داد که ۳۱ درصد گاوها، ۲۷ درصد گوسفندان و تعداد ۱ نفر شتر، تیت سرمی مثبت داشتند (Abdollahpour, 2016).

استان گیلان به جهت دارا بودن رطوبت بالا و بارش‌های فراوان در طول سال جایگاه مناسبی برای حیات و بقا لپتوسپیراها محسوب می‌شود لذا بیماری لپتوسپیروزیس در استان گیلان با توجه به شرایط آب و هوایی و شرایط اقلیمی و همچنین وجود شالیزارهای وسیع، میزان بالای آب‌های جاری و راکد، تنوع حیات وحش همزمان با حضور حیوانات اهلی به‌ویژه نشخوارکنندگان که در مواردی بخشی از تغذیه آن‌ها از طریق چرای آزاد در مراتع و جنگل تامین می‌گردد دارای اهمیت ویژه می‌باشد. وقوع بیماری مذکور برای نخستین بار در استان گیلان، در سال ۱۳۷۶ به سیستم بهداشت و درمان استان گزارش شده‌است (Abdollahpour, 2016). در مطالعه‌ای در سال ۱۳۸۷ در شهرستان رشت، از بین ۹۸ نمونه ادرار گاوها که به طور تصادفی جمع‌آوری گردیده‌بود و به روش PCR (Polymerase Chain Reaction) مورد آزمایش قرار گرفتند، DNA باکتری لپتوسپیرا در ۴۲ مورد شناسایی شد (Shafighi et al., 2009). البته به جهت اهمیت بیماری لپتوسپیروزیس و جنبه‌های بهداشتی آن، در مورد آن مطالعات متعددی در سطح کشور هم انجام پذیرفته است. در مطالعه‌ای در اهواز از مجموع ۶۴۵ رأس گاو تحت مطالعه ۳۴۷ رأس (۵۳/۷۹ درصد) حداقل به یک

سروتیپ واکنش مثبت نشان دادند و از نظر فراوانی، سرووارهای لپتوسپیرا گریپوتیفوزا و پومونا بیشترین سهم را داشتند. همچنین نمونه‌های مثبت عیارهای ۱:۱۰۰ را به میزان ۴۴/۴۲ درصد، ۱:۲۰۰ را به میزان ۳۸/۴۴ درصد، ۱:۴۰۰ را به میزان ۱۴/۵۴ درصد و ۱:۸۰۰ را به میزان ۱/۲۰ درصد دارا بودند. همچنین بررسی‌های آماری نشان داد که از نظر درصد آلودگی سرمی، بین جنس‌های نر و ماده اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (Haji Hajikolaie et al., 2005). از دیدگاه زئونوز بودن هم، اعلام شده که لپتوسپیروزیس در استان گیلان دارای اهمیت بالایی می‌باشد، چنانچه اغلب مبتلایان، از میان جمعیت کشاورزان می‌باشند و قریب به اکثریت موارد هم سابقه تماس با آلودگی را طی مدت یک هفته قبل از بستری شدن ذکر کرده‌اند. بر اساس یک مطالعه انجام شده در این خصوص، شایع‌ترین سویه مسئول ایجاد بیماری لپتوسپیروزیس انسان در استان گیلان، سرووار لپتوسپیرا/ایکترو همورائیه بوده و میزان کشندگی بیماری هم ۱/۱ درصد گزارش شده‌است. همچنین به علت اندمیک بودن لپتوسپیروزیس در استان گیلان، انجام تحقیقات وسیع‌تر مبتنی بر جمعیت در این زمینه پیشنهاد شده‌است (Mansour-Ghanaei et al., 2009).

لذا با توجه به مطالب ذکرشده و نظر به اهمیت روزرسانی اطلاعات موجود در خصوص بیماری لپتوسپیروزیس در استان گیلان، بویژه در جمعیت دامی، مطالعه حاضر با هدف بررسی شیوع سرولوژیک و ارزیابی شرایط بیماری در گاوهای کشتارگاهی استان گیلان طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر یک مطالعه مقطعی از نوع مشاهده‌ای توصیفی می‌باشد. حجم نمونه بر اساس پیش‌بینی شیوع ۲۰ درصد، سطح اطمینان ۹۵ درصد و حداکثر خطای ۵ درصد، طبق فرمول
$$n = \frac{z^2 p(1-p)}{d^2}$$
 محاسبه گردید. در این فرمول P برابر است با مقدار شیوع آلودگی بر اساس مطالعات قبلی، Z برابر است با ۱/۹۶ و D برابر است با میزان خطای مطلق، که براساس فرمول فوق، نهایتاً تعداد ۲۴۶ نمونه، به عنوان حداقل نمونه لازم برای تحقیق به-دست آمد. البته با توجه به امکان از بین رفتن تعدادی از نمونه‌ها در مراحل مختلف کار، در طی بهار و تابستان ۱۴۰۲ با هماهنگی قبلی، روزهای شنبه و دوشنبه هر هفته به کشتارگاه لنگرود مراجعه می‌شد و از بین گاوهای کشتاری آن روز، تعداد ۱۰ رأس گاو به‌صورت تصادفی انتخاب شده و از آن‌ها نمونه خون اخذ می-گردید تا مجموع دام‌های نمونه‌برداری شده به تعداد ۳۰۰ رسید. در مرحله خون‌گیری با استفاده از ونوجکت بدون ماده ضد انعقاد (دانش‌کار، ایران)، مقدار ۵ میلی‌لیتر خون کامل از ورید وداج گاوهای مورد نظر اخذ می‌شد و پس از سانتریفیوژ کردن (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) و جداسازی سرم، مقدار یک میلی‌لیتر از سرم حاصله از هر نمونه خون، جداگانه به لوله اپندروف (QCLAB Co.) کدگذاری شده منتقل می‌گردید و تا زمان انجام آزمایش MAT (microscopic agglutination test) در فریزر (LG) ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شد. در ادامه و برای انجام آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی (MAT)، سرم‌های جمع‌آوری شده به آزمایشگاه تحقیقاتی

لپتوسپیروز دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران واقع در بیمارستان آموزشی محمدشهر کرج منتقل گردید. - آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی (Microscopic agglutination test; MAT) در آزمایشگاه تحقیقاتی لپتوسپیروز، یک روز قبل از شروع آزمایش MAT، نمونه‌های سرمی از فریزر به یخچال ۴ درجه سلسیوس منتقل شدند تا به مرور از حالت فریز خارج شوند. روز بعد، ابتدا از نمونه‌های سرمی رقت ۱:۵۰ در محلول PBS تهیه شد که بدین منظور، مقدار ۲۰ میکرولیتر از هر نمونه سرم، جداگانه با ۹۸۰ میکرولیتر محلول PBS (phosphate-buffered saline) در یک لوله اپندروف مخلوط شده و محلول یکنواختی تهیه گردید. در ادامه برای انجام آزمایش MAT از ۵ آنتی‌ژن زنده مربوط به سروارهای لپتوسپیرو گریپوتیفوزا، پومونا، ایکترو هموراژیه، کانیکولا و هارجو با تراکم استاندارد 2×10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر استفاده شد (Abdollahpour, 2016). همچنین پس از استاندارد نمودن آنتی‌ژن‌های زنده هم، مقدار ۱۰ میکرولیتر از هر آنتی‌ژن آماده شده، جداگانه بر روی لام میکروسکوپ ریخته‌شده و ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه سرمی با رقت ۱:۵۰ هم به آن افزوده شده و با سرسمپلر به خوبی مخلوط می‌گردید. در ادامه لام مذکور که حاوی مخلوط آنتی‌ژن و نمونه سرمی بود به داخل پتری‌دیش انتقال یافته و به مدت ۹۰ دقیقه در گرم‌خانه ۲۹ درجه سلسیوس و با رطوبت مناسب، قرار داده شد. در نهایت هم محتویات لام با کمک میکروسکوپ زمینه تاریک (Olympus BX50) با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر مطالعه و از نظر میزان آگلوتیناسیون تحت بررسی و ارزیابی قرار گرفت. میزان آگلوتیناسیون هر نمونه هم

انجام گرفت و بالاترین رقتی که در آن میزان آگلوتیناسیون ۳+ و ۴+ مشاهده شد، به عنوان عیار نهایی پادتن ضد لپتوسپیرو در نمونه سرمی مورد نظر ثبت گردید.

- تحلیل آماری داده‌ها

برای تعیین ارتباط بین جنسیت و آلودگی به لپتوسپیرو از آزمون مربع کای و نسخه ۲۵ نرم‌افزار SPSS استفاده گردید. همچنین مقدار $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بر اساس نتایج به دست آمده در روش MAT، از مجموع ۳۰۰ نمونه سرمی اخذ شده از گاوهای کشتارگاهی تحت بررسی در مطالعه حاضر، شامل ۱۸۵ راس گاو ماده و ۱۱۵ راس گاو نر، ۶۲ نمونه (۳۴/۶۶ درصد) دارای واکنش مثبت با عیار سرمی ۱:۱۰۰ و بالاتر بودند که در این بین ۲۶ نمونه عیار ۱:۲۰۰ و ۹ نمونه عیار ۱:۴۰۰ داشتند. همچنین لپتوسپیرو/اینتروگانس سرووار هارجو با ۳۷ مورد مثبت (۵۹/۶۷ درصد نمونه‌های سرمی مثبت) بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داد و سرووارهای گریپوتیفوزا با ۱۶ مورد مثبت (۲۵/۸۰ درصد) و پومونا با ۱۰ مورد مثبت (۱۶/۱۲ درصد)، در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. همچنین لپتوسپیرو/اینتروگانس سرووار/ایکتروهموراژیه با ۵ مورد مثبت (۸/۰۶ درصد نمونه‌های سرمی مثبت) کمترین فراوانی را در روش MAT نشان داد. از طرف دیگر، از مجموع ۳۰۰ نمونه سرمی، ۲۵ نمونه (۸/۳۳ درصد) در روش MAT دارای واکنش سرمی ۲+ بوده که طبق استاندارد سازمان جهانی بهداشت به عنوان نمونه‌های مشکوک

بدین صورت درجه‌بندی گردید: چنانچه ۲۵ درصد اجرام لپتوسپیرویی در هر میدان میکروسکوپی آگلوتینه می‌شدند ۱+ (منفی)، اگر ۵۰ درصد آگلوتینه می‌شدند ۲+ (مشکوک)، اگر ۷۵ درصد آگلوتینه می‌شدند ۳+ (مثبت) و اگر نزدیک به ۱۰۰ درصد آگلوتیناسیون مشاهده می‌شد ۴+ (مثبت) گزارش می‌گردید (Abdollahpour, 2016).

لازم به ذکر است که این عمل برای هر نمونه با استفاده از هر یک از آنتی‌ژن‌های ۵ سرووار ذکر شده، جداگانه انجام شد. همچنین به منظور ارزیابی صحت آزمایش در هر سری از آزمایشات، یک نمونه کنترل منفی و یک نمونه کنترل مثبت از سرووارهای لپتوسپیرو (با استفاده از نمونه‌های استاندارد شده آنتی‌سرم و آنتی‌ژن موجود) نیز آماده می‌گردید و پیش از قرائت نتایج نمونه‌های اصلی، ابتدا نمونه‌های کنترل مثبت و منفی مورد مشاهده و ارزیابی قرار می‌گرفتند و در صورت صحت نتایج نمونه‌های هر دو کنترل، اقدام به قرائت نتایج سایر نمونه‌ها می‌شد.

ضمناً، طبق استاندارد سازمان جهانی بهداشت (Abdollahpour, 2016)، نمونه‌های با درجه آگلوتیناسیون ۳+ و ۴+، مثبت تلقی شده و جهت عیارسنجی نهایی تحت آزمایش مجدد قرار گرفتند و در مرحله بعد با استفاده از روش عیارسنجی، عیار نهایی پادتن ضد لپتوسپیرو در نمونه‌های مثبت مذکور، تعیین گردید.

- تعیین عیار پادتن ضد لپتوسپیرو در نمونه‌های مثبت

به این منظور ابتدا از سرم‌هایی که در مرحله اول آزمایش MAT، مثبت تلقی شدند، رقت‌های ۱:۱۰۰، ۱:۲۰۰، ۱:۴۰۰ و ۱:۸۰۰ تهیه شده و عملیات عیارسنجی

تلقی شدند و ۷ نمونه سرمی هم به طور همزمان با ۲ سروار لپتوسپیرو/ ایتروگانس واکنش مثبت نشان دادند (جدول ۱).

جدول ۱- فراوانی سرمی سروارهای شناسائی شده از لپتوسپیرو/ ایتروگانس در نمونه‌های مربوط به گاوهای کشتاری، به روش آگلوتیناسیون میکروسکوپی

تعداد موارد مثبت شناسائی شده در رقت‌های مختلف استفاده شده در آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی

رقت مورد استفاده در آزمایش	۱:۱۰۰	۱:۲۰۰	۱:۴۰۰	مجموع موارد مثبت
سروار شناسائی شده				
لپتوسپیرو گریپوتیفوزا	۷	۷	۲	۱۶
لپتوسپیرو پومونا	۶	۳	۱	۱۰
لپتوسپیرو ایکترو هموراژیه	۳	۲	۰	۵
لپتوسپیرو کنیکولا	۰	۰	۰	۰
لپتوسپیرو هارچو	۱۷	۱۴	۶	۳۷
مجموع سروارهای شناسائی شده	۳۳	۲۶	۹	۶۸

(عیارهای ۱:۱۰۰ و بالاتر مثبت در نظر گرفته شده‌اند)

از طرف دیگر در تحقیق حاضر مشخص شد که در بین نمونه‌های مثبت، ۴۰ نمونه سرمی (۶۴/۵۱ درصد) به گاوهای جنس ماده و ۲۲ نمونه سرمی (۳۵/۴۸ درصد) به گاوهای جنس نر تعلق داشتند (جدول ۲) و نیز ارتباط آماری معنی‌داری بین جنسیت دام و میزان آلودگی به لپتوسپیروز وجود ندارد ($p=0/60$).

جدول ۲- فراوانی سرمی ابتلا به لپتوسپیروز در آزمایش آگلوتیناسیون میکروسکوپی، بر حسب جنسیت گاوها

جنسیت گاو مورد آزمایش	نمونه‌های مثبت	نمونه‌های منفی	مجموع نمونه‌ها
نر	۲۲ مورد (۱۹/۱ درصد)	۹۳ مورد (۸۰/۹ درصد)	۱۱۵ مورد (۱۰۰ درصد)
ماده	۴۰ مورد (۲۱/۶ درصد)	۱۴۵ مورد (۷۸/۴ درصد)	۱۸۵ مورد (۱۰۰ درصد)
فراوانی کلی	۶۲ مورد (۲۰/۷ درصد)	۲۳۸ مورد (۷۹/۳ درصد)	۳۰۰ مورد (۱۰۰ درصد)

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر که با استفاده از نمونه سرمی تعداد ۳۰۰ رأس گاو انجام گردید، مشاهده گردید که شیوع بیماری لپتوسپیروزیس در گاوهای کشتارگاهی استان گیلان، ۲۰/۶۶ درصد بوده و سرووار غالب هم از لپتوسپیرو پومونا به لپتوسپیرو هارجو تغییر یافته است. لذا نتایج مطالعه حاضر بیانگر کاهش ۱۷ درصدی میزان شیوع و تغییر سرووار غالب طی ۱۵ سال گذشته می‌باشد چرا که یافته‌های آخرین مطالعه‌ای که بر روی نمونه‌های سرمی ۹۸ رأس گاو کشتارگاهی شامل ۵۹ رأس گاو ماده و ۳۹ رأس گاو نر با روش MAT در سال ۱۳۸۷ در شهرستان رشت استان گیلان انجام گردیده نشان داده که ۳۷ نمونه (۳۷/۸ درصد موارد) واکنش مثبت سرمی بر علیه یک یا تعداد بیشتری از سرووارهای باکتری لپتوسپیرو ایتروگانس داشتند و شایع‌ترین سرووار هم لپتوسپیرو پومونا گزارش گردیده‌است (Shafighi et al., 2010).

خلیلی و همکاران هم در سال ۲۰۱۹ و بر اساس جمع‌آوری و متاآنالیز اطلاعات منتشر شده پیشین در زمینه لپتوسپیروز در بازه زمانی ۱۹ ساله، شیوع سرولوژیک بیماری مذکور را در گاوهای کشور، ۲۶/۶۲ درصد گزارش کردند (Khalili et al., 2020) که در مقایسه با نتایج مطالعه حاضر که شیوع سرمی لپتوسپیروزیس گاوی در استان گیلان را ۲۰/۶۶ درصد ارائه داده (جدول ۱)، نشان می‌دهد که نسبت به میانگین کشور پایین‌تر می‌باشد. البته در خصوص اختلاف مشاهده‌شده باید به این نکته توجه نمود که مطالعه حاضر محدود به گاوهای ارجاعی به کشتارگاه بوده- است. همچنین در مطالعه متاآنالیزی دیگری در بازه

زمانی ۲۰ ساله، شیوع سرولوژیک بیماری لپتوسپیروزیس در جمعیت گاوهای کشور، ۲۵/۶ درصد و سرووار لپتوسپیرو گریپوتیفوزا با فراوانی ۲۶ درصد، با اختلاف کمی نسبت به فراوانی سرووار لپتوسپیرو پومونا (۲۵/۱ درصد)، شایع‌ترین سرووار گزارش گردیده و همچنین از نظر آماری نیز مشخص شده که شیوع لپتوسپیروز با گذشت زمان روند کاهشی داشته است (Hassani and Nayeri Fasaei, 2020)، که بر این اساس هم‌خوانی بالایی با یافته‌های تحقیق ما ملاحظه می‌گردد چرا که براساس نتایج مطالعه حاضر هم مشخص گردیده که سرووار غالب در بین گاوهای کشتارگاهی استان گیلان به لپتوسپیرو ایتروگانس سرووار هارجو تغییر یافته و شیوع بیماری لپتوسپیروزیس در گاوهای کشتارگاهی، نسبت به مطالعه قبلی در استان گیلان (Shafighi et al., 2010)، روندی کاهشی داشته است. البته در این ارتباط همچنین گزارش شده، علی‌رغم این- که سرووارهای مختلفی از باکتری لپتوسپیرو ایتروگانس در سراسر جهان شناخته شده‌اند، اما عفونت لپتوسپیرویی معمولاً توسط سروواری ایجاد می‌شود که بومی همان منطقه باشد (Alonso-Andicoberry et al., 2001). براین اساس، مطالعات انجام گرفته در نقاط مختلف ایران هم حاکی از آن است که سرووار غالب در مناطق مختلف متفاوت است. به‌طوری‌که در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۵، بررسی نمونه‌های سرمی ارجاع شده به موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی به روش MAT، که مربوط به بیش از ۱۳۸۴۰ رأس گاو بود، مشخص کرد که سرووار لپتوسپیرو کانیکولا بیشترین شیوع سرمی را به خود اختصاص داده‌است، درحالی که میزبان نگهدارنده (Maintenance host) سرووار مذکور، سگ می‌باشد

(جدول ۲). همچنین سرووار هارجو با ۳۷ نمونه مثبت (۵۹/۶۷ درصد) بیشترین شیوع را به خود اختصاص داد، سرووارهای گریپوتیفوزا با ۱۶ مورد (۲۵/۸۰ درصد) و پومونا ۱۰ مورد (۱۶/۱۲ درصد) در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. سرووار ایکتروهموراژیه با ۵ مورد (۸/۰۶ درصد) کمترین میزان شیوع را در آزمایش MAT نشان داد (جدول ۱). در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۳ که در گاو‌داری‌های اطراف تهران انجام شد ۴۰۸ نمونه خون گاوهای شیری و ۱۵۴ نمونه خون گاوهای پرواری به روش MAT مورد آزمایش قرار گرفتند. در این بررسی نشان داده شد ۲۲۸ مورد (۴۰/۶ درصد) دارای واکنش مثبت سرمی با روش MAT بودند که سروتیپ پومونا فراوان‌ترین (۴۰/۳ درصد) و سروتیپ کانیکولا کمترین فراوانی (۱/۴ درصد) را در بین نمونه‌ها داشتند. شایع‌ترین عیار سرمی ۱:۱۰۰ و بالاترین عیار ۱:۱۶۰۰ بود (Maleki et al., 2013). در مقام مقایسه در این مطالعه که ۱۰ سال قبل و در استان تهران و البرز صورت گرفت نسبت به مطالعه حاضر شیوع سرولوژیک بیماری بالاتر گزارش گردید و سروتیپ غالب پومونا بود. همچنین در هر دو مطالعه شایع‌ترین عیار سرمی ۱:۱۰۰ گزارش شد که در واقع پایین‌ترین عیار سرمی است که مثبت در نظر گرفته می‌شود. همچنین در مطالعه دیگری که بر روی نشخوارکنندگان در استان لرستان انجام پذیرفته، از بین ۲۳۸ نمونه خون اخذ شده از گاو، ۶۲ رأس (۲۶/۰۵ درصد) از نظر واکنش سرمی مثبت شدند و غالب‌ترین سرووار آلوده‌کننده در گاو گریپوتیفوزا (۴۱/۹۳ درصد) بود (Maleki et al., 2020). در مطالعه‌ای در تبریز که بر روی ۲۲۹ نمونه سرمی گاوهای شیری با روش MAT

(Khaki et al., 2005). همچنین در طی مطالعه دیگری در منطقه شهرستان اهواز که در جنوب غربی کشور ایران قرار دارد، از مجموع ۶۴۵ رأس گاو تحت مطالعه، تعداد ۳۴۷ رأس (۵۳/۷۹ درصد) در روش سرولوژیک MAT، حداقل به یک سروتیپ واکنش مثبت نشان دادند و نیز لپتوسپیرا/ایتروگانس سرووار گریپوتیفوزا با شیوع سرمی ۳۰ درصد، دارای بیشترین فراوانی بود و بعد از آن به ترتیب سرووارهای پومونا با فراوانی ۱۸/۳۳ درصد، کانیکولا با فراوانی ۱۵/۵۳ درصد، هارجو با فراوانی ۱۴/۳۵، ایکتروهموراژیه با فراوانی ۱۱/۵۵ درصد و بالوم با فراوانی ۱۰/۱۶ درصد قرار داشتند و نیز در ۳۵/۱۶ درصد از نمونه‌های سرم، جواب مثبت علیه بیش از یک سرووار مشاهده شد. همچنین فراوانی نمونه‌های مثبت با عیارهای ۱:۱۰۰ به میزان ۴۴/۴۲ درصد، ۱:۲۰۰ به میزان ۳۸/۴۴ درصد، ۱:۴۰۰ به میزان ۱۴/۵۴ درصد و ۱:۸۰۰ به میزان ۱/۲۰ درصد ثبت شده است. بررسی‌های آماری هم نشان داده که از نظر میزان آلودگی سرمی به سرووارهای تحت مطالعه از باکتری لپتوسپیرا/ایتروگانس، بین دو جنس نر و ماده اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشته است (Haji Hajikolaei et al., 2005). در مطالعه حاضر نیز مشخص گردید که ۶۲ نمونه سرم (۲۰/۶۶ درصد موارد) دارای واکنش مثبت با عیار سرمی ۱:۱۰۰ و بالاتر بودند که در این بین ۲۶ نمونه عیار ۱:۲۰۰ و ۹ نمونه عیار ۱:۴۰۰ داشتند (جدول ۱). همچنین در بین نمونه‌های مثبت، ۴۰ نمونه سرم (۶۴/۵۱ درصد موارد) مربوط به گاوهای ماده و ۲۲ نمونه سرم هم (۳۵/۴۸ درصد موارد) به گاوهای نر تعلق داشتند و نیز ارتباط آماری معنی‌داری بین جنسیت دام‌ها و میزان آلودگی به لپتوسپیروزیس مشاهده نشد

انجام گرفته، ۲۴ درصد دام‌ها از لحاظ سرولوژیکی مثبت بودند و سرووارهای پومونا و گریپوتیفوزا به ترتیب با فراوانی ۳۴/۲ و ۳۲/۹ درصد، شایع‌ترین سرووارهای باکتری لپتوسپیرو/ایتروگانس، گزارش گردیده‌اند، ضمن این‌که در بررسی مذکور، هیچ یک از نمونه‌های سرمی با سرووار هارجو واکنش مثبت نشان ندادند (Hassanpour et al., 2008). این در حالیست که در مطالعه حاضر سرووار هارجو با ۳۷ نمونه مثبت، به عنوان شایع‌ترین سرووار باکتری لپتوسپیرو/ایتروگانس، در بین گاوهای کشتاری استان گیلان ثبت شده‌است (جدول ۱).

از طرف دیگر در مطالعه انجام شده در سال ۱۳۹۲ در ارومیه، مجموعاً ۳۶ درصد گاوهای مورد مطالعه به آزمون سرولوژیک MAT واکنش سرمی مثبت نشان دادند به طوری که ۲۲/۷ درصد از موارد مذکور نسبت به سرووار پومونا، ۱۳/۸ درصد نسبت به سرووار گریپوتیفوزا و ۸/۴ درصد هم نسبت به سرووار هارجو بوده‌است. همچنین ۱۸/۲ درصد از نمونه‌های مثبت، عیار ۱:۱۰۰ و ۲۶/۶ درصد هم عیار ۱:۲۰۰ داشتند. همچنین ۲۸/۶ درصد از نمونه‌های سرمی با یک سرووار، ۵/۹ درصد با ۲ سرووار و ۱/۵ درصد هم با ۳ سرووار واکنش مثبت نشان دادند (Ramin et al., 2013)، ولی در مطالعه حاضر ۷ نمونه به طور همزمان با ۲ سرووار از باکتری لپتوسپیرو/ایتروگانس، واکنش مثبت نشان دادند. در عین حال در مطالعه فوق نیز مانند مطالعه حاضر، اختلاف آماری معنی‌داری در میزان شیوع لپتوسپیروز در بین جنس‌های نر و ماده مشاهده نگردید (Ramin et al., 2013). در مطالعه سرولوژیک جدیدی که در سال ۱۴۰۲ و در منطقه ارومیه صورت

گرفته و طی آن ۸۶۲ نمونه سرمی نشخوارکنندگان و تک‌سمی‌ها به وسیله روش MAT مورد آزمایش قرار گرفته، شیوع کلی لپتوسپیروز ۲۳/۳۰ درصد گزارش شده‌است. همچنین شایع‌ترین موارد مثبت مربوط به سرووار پومونا در نشخوارکنندگان و گریپوتیفوزا در تمامی گونه‌ها و کمترین شیوع هم مربوط به سرووار کانیکولا بود. همچنین اعلام گردیده که فراوانی آلودگی نشخوارکنندگان به سرووارهای باکتری لپتوسپیرو/ایتروگانس در مقایسه با تک‌سمی‌ها به مراتب بالاتر می‌باشد (Ramin et al., 2023).

در خصوص آلودگی نشخوارکنندگان کوچک هم به سرووارهای باکتری لپتوسپیرو/ایتروگانس، در مطالعه‌ای در سال ۱۳۸۸ در استان آذربایجان شرقی که بر روی ۲۶۰ نمونه سرمی اخذ شده از ۲۰ گله گوسفند انجام گردید، نتایج آزمایش سرولوژیکی نشان داده که ۲۸/۴۶ درصد نمونه‌های سرمی مثبت بوده و عمده آلودگی مربوط به گوسفندانی بوده‌است که در محیط‌های باتلاقی و جنگلی زندگی می‌کردند (Imandar et al., 2012). همچنین در مطالعه‌ای که در سال ۱۴۰۱ به روش MAT بر روی نمونه خون ۲۶۱ راس از گوسفندان استان خوزستان انجام گردیده، گزارش شده که جمعاً نمونه سرمی ۱۲ راس از آن‌ها (۴/۵ درصد از موارد آزمایش شده) واجد پادتن ضد لپتوسپیرو/ایتروگانس بوده‌اند که در این میان، ۴ نمونه با سرووار گریپوتیفوزا، ۴ نمونه با سرووار/یکتروهموراژیه، ۳ نمونه با سرووار هارجو و ۱ نمونه نیز با سرووار پومونا واکنش مثبت نشان داده‌اند. همچنین عیارسنجی نمونه‌های مثبت هم نشان داده که ۱۰ نمونه عیار ۱:۱۰۰ داشته و ۲ نمونه هم واجد عیار ۱:۴۰۰ بودند. نتایج این

بیماری در مناطق مختلف و نیز در طی زمان و در گونه‌های مختلف حیوانات و در شرایط مختلف جغرافیایی و آب و هوایی مرتب در حال تغییر است و لذا با توجه به این وضعیت متغیر بیماری، اهمیت روزرسانی اطلاعات موجود در زمینه لپتوسپیروز در کشور و در استان‌های مختلف بیش از پیش نمایان می‌شود. البته کاهش شیوع سرولوژیک لپتوسپیروز در مطالعه حاضر می‌تواند دلایل مختلفی داشته باشد از جمله، افزایش آگاهی عمومی و نیز افزایش سطح بهداشت دامداری‌ها، تشدید اقدامات دستگاه‌های نظارتی و رعایت بیشتر موازین بهداشتی به‌ویژه در طی پاندمی بیماری کرونا و تاکید مقامات بهداشتی بر رعایت دستورالعمل‌های بهداشتی جهت پیشگیری از بیماری‌های عفونی. اگرچه که میزان آلودگی همچنان بالا می‌باشد، با این وجود به نظر می‌رسد به دلیل حضور میزبان‌های نگهدارنده اهلی و وحشی و شرایط آب و هوایی متغیر و ناپایدار در استان گیلان، خطر افزایش شیوع بیماری همچنان به قوت خود باقی است. لذا ضرورت دارد نهادهای مسئول بهداشت و درمان و سازمان دامپزشکی کشور اقدامات نظارتی و پیشگیرانه لازم را همواره به‌طور جدی دنبال نمایند و پیش‌بینی‌های لازم برای جلوگیری از شیوع ناگهانی بیماری در دام‌ها و انسان را مد نظر داشته باشند. این امر بویژه در شرایط بحرانی و بلایای طبیعی مانند سیل، طوفان و زلزله که سبب جابجایی حیوانات مخزن لپتوسپیراها و آلودگی بیشتر آب‌های سطحی می‌گردد از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

مطالعه نیز حاکی از کاهش میزان شیوع سرولوژیک لپتوسپیروز در گوسفندان استان خوزستان در مقایسه با مطالعات قبلی بوده است (Moradikia *et al.*, 2022). مقایسه نتایج مطالعات مربوط به نشخوارکنندگان کوچک و بزرگ و مخصوصاً یافته‌های تحقیق حاضر نشان می‌دهد که میزان شیوع بیماری لپتوسپیروز در گاو بسیار بیشتر از گوسفند بوده و نیز کاهش نسبی شیوع لپتوسپیروز در بین نشخوارکنندگان ۲ استان گیلان و خوزستان در طی ۲ سال اخیر در مقایسه با دهه گذشته مشهود می‌باشد.

از طرف دیگر در طی تحقیقی در سال ۱۳۹۶ که بر روی اسب‌های استان تهران و با استفاده از روش آگلوتیناسیون میکروسکوپی انجام شده، از تعداد ۱۵۲ رأس اسب تحت مطالعه، ۲۳ مورد (۱۵/۱۳ درصد) دارای عیار سرمی مثبت بودند و بیشترین آلودگی هم مربوط به سرووار/یکتروهموراژیه (۴۴/۴۴ درصد) ثبت شده است (Haji Hajikolaie *et al.*, 2016) و نتایج مطالعه حاضر در استان گیلان نشان‌دهنده بالاتر بودن آلودگی نشخوارکنندگان به لپتوسپیروز در مقایسه با تک‌سمی‌ها هم می‌باشد.

نتیجه نهائی این که یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد، میزان شیوع سرولوژیک لپتوسپیروز در گاوهای کشتارگاهی استان گیلان، ۲۰/۶۶ درصد بوده و شایع‌ترین سرووار هم لپتوسپیرو/هارجو می‌باشد که در مقایسه با مطالعات قبلی در گاو، هم شیوع بیماری روندی کاهشی داشته و هم سرووار غالب از پومونا به هارجو تغییر یافته است. بررسی نتایج به‌دست آمده از مناطق مختلف کشور هم که در بالا به برخی از آن‌ها اشاره شد، نشان می‌دهد که سرووار غالب و میزان شیوع

سپاسگزاری

سرم‌سازی رازی و همکاری جناب آقای مهندس جواد

صادقی علویجه، کارشناس آزمایشگاه، اعلام می‌دارند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ موردی از تضاد

منافع ندارند.

این مقاله مستخرج از رساله مصوب دانشکده

دامپزشکی دانشگاه تهران و کد اخلاق

IR.UT.VETMED.REC.1402.044 می‌باشد.

نویسندگان تشکر ویژه خود را از همکاری اداره کل

دامپزشکی استان گیلان، اداره دامپزشکی شهرستان

لنگرود، مدیریت و پرسنل زحمتکش کشتارگاه صنعتی

دیلم استان گیلان، موسسه تحقیقات واکسن و

منابع

- Abdollahpour, G. (2016). Leptospirosis, a disease transmitted from animals to humans. University of Tehran Press. [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 cattle in Spain. *Preventive Veterinary Medicine*, 52(2): 109-117.
- Constable, P.D., Hinchcliff, K.W., Done, S.H. and Grünberg, W. (2017). *Veterinary Medicine – A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats*. 11th ed., Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, pp: 1115-1129.
- Costa, F., Hagan, J.E., Calcagno, J., Kane, M., Torgerson, P. and Martinez-Silveira, M.S. (2015). Global morbidity and mortality of leptospirosis: A systematic review. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(9): 1-19.
- De Sainte Marie, B., Delord, M., Dubourg, G., Gautret, P., Parola, P., Brouqui, P., et al. (2015). Leptospirosis presenting as honeymoon fever. *International Journal of Infectious Diseases*, 34(5): 102-104
- Hassani, M. and Nayeri Fasaie, B. (2020). A meta-analysis of the prevalence of Leptospirosis and its serovars in livestock population of Iran. *Journal of Veterinary Research*, 75(3): 262-270. [In Persian]
- Hassanpour, A., Fartashvand, M., Abdollahpour, G., Moghadam, G.H., Nadalian, M.G. and Satari, S. (2008). Determination of the serological infection to Leptospiral infection in Tabriz dairy cattle herds. *Journal Pajouhesh Va Sazandegi*, 74(1): 67-77. [In Persian]
- Haji Hajikolaei, M.R., Ghorbanpour, M. and Abdollahpour, G. (2005). Serological study of leptospirosis in cattle in Ahvaz. *Journal Veterinary Research (University of Tehran)*, 60(1): 7-14. [In Persian]
- Haji Hajikolaei, M.R., Nafisi Mozaffar, A., Lotfollahzadeh, S., Ghorbanpour, M. and Abdollahpour, G. (2016). Seroprevalence of *Leptospira interrogans* infection in horses from some horse clubs in Tehran by Microscopic Agglutination Test (MAT). *Veterinary Clinical Pathology*, 9(36): 347-364. [In Persian]
- Imandar, M., Hassanpour, A., Abdollahpour, G. and Haghpanah, H. (2012). Evaluation of risk factors of prevalence of Leptospirosis in sheep flocks. *Veterinary Clinical Pathology*, 5,4(20): 1397-1403. [In Persian]

- Khaki, P., Bidehendi, M.S. and Vande yousefi, J. (2005). Prevalence of Leptospirosis in Iran. Proceedings of the 4th Scientific Meeting of the International Leptospirosis Society. November 14-16. Chiang Mai, Thailand.
- Khalili, M., Sakhaee, E., Bagheri Amiri, F., Asadabadi Safat, A., Afshar, D. and Esmaeili, S. (2020). Serological evidence of Leptospirosis in Iran; A systemic review and meta-analysis. *Microbial Pathology*, 138(1): 1-11.
- Maleki, Sh., Abdollahpour, G. and Bahonar, A.R. (2013). Serological and bacteriological study of Leptospirosis in dairy herds and feedlot in Tehran suburbs. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 7(3): 177-183.
- Maleki, S., Zakian, A. and Abdollahpour, G. (2020). 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., Fallah, MS., Jafarshad, R., Jokar, F., Heydarzadeh, A. and Honarmand, H. (2009). Leptospirosis in Guilan, a northern province of Iran: assessment of the clinical presentation of 74 cases. *Tropical and Infectious Diseases Journal*, 13(42): 53-56. [In Persian]
- Moradikia, M.H., Abdollahpour, G., Akbarein, H. and Ghalyanchilangeroudi, A. (2022). Serological prevalence of Leptospirosis in sheep in Khuzestan province using MAT method. *Veterinary Clinical Pathology*, 16(62): 173-186. [In Persian]
- Ramin, A.Gh., Abdollahpour, G., Azizzadeh, F., Ghahremani, P., Masoudi, A. and Ramin, S. (2013). Seroepidemiological detection of antibodies against *Leptospira* using microscopical agglutination test in Urmia cow and sheep. *Iranian Veterinary Journal*, 9(3): 54-61. [In Persian]
- Ramin, A.Gh., Abdollahpour, G., Hosseinzadeh, A., Azizzadeh, F., Ramin, P., Kalili, Y., et al. (2023). Comparison of anti-*Leptospira* antibodies by microscopic agglutination test in ruminants and equines of Urmia, Iran. *Veterinary Research Forum*, 14(4): 229-235.
- Shafighi, T., Abdollahpour, G., Zahraei Salehi, T. and Tadjbakhsh, H. (2010). Serological and bacteriological study of Leptospirosis in slaughtered cattle in north of Iran (Rasht). *African Journal of Microbiology Research*, 4(20): 118-2121.
-