

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه گیلان

دانشکده دامپزشکی

شماره پایان نامه : ۱۱

سال تحصیلی ۸۱-۸۲

بررسی سرولوژیک لپتوسپیروز انسان در مناطق عشایری شهرستانهای
کوهرنگ و فارسان

پایان نامه برای دریافت دکترای عمومی دامپزشکی

لیلا علیجانی

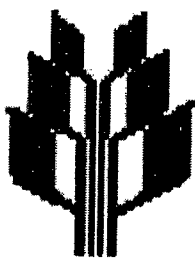
مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران
تهیه مدارک

استاد راهنما

۱۳۸۲ / ۱۱ / ۳۰

دکتر عزیز الله ابراهیمی

ع ۸۷۵۲



دانشگاه گیلان

دانشکده دامپزشکی

پایان نامه برای دریافت دکترای عمومی

لیلا علیجانی

تحت عنوان

بررسی سرولوژیک لپتوسپیروز انسان در مناطق عشایری شهرستانهای کوهرنگ و
فارسان

در تاریخ ۸۱/۱۱/۹۱ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و بارتبه ^{مستفاد} مورد تصویب نهایی قرار گرفت.

راهنما و رئیس هیات داوران (مربی)

داور پایان نامه (استاد یار)

داور پایان نامه (استاد یار)

مشاور پایان نامه (استاد یار)

۱- دکتر عزیز الله ابراهیمی

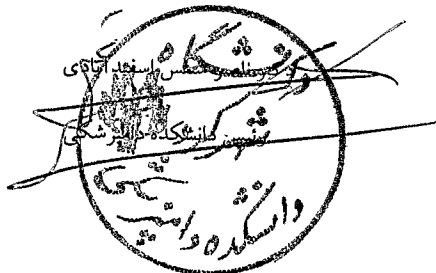
۲- دکتر غلامعلی کجوری

۳- دکتر رویا حبیبیان

۴- دکتر محمد رضا محزونیه

مسئولیت کلیه عقاید و نظراتی که در این پایان نامه آورده شده است به عهده نگارنده بوده و دانشکده دامپزشکی هیچ گونه مسئولیتی را در این زمینه تقبل

نمی نماید.



چهار

کلیه حقوق مادی مرتبت بر نتایج مطالعات ،
ابتکارات و نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع
این پایان نامه متعلق به دانشگاه شهر کرد است .

تقدیم به:

استاد ارجمند و بزرگوارم جناب دکتر عزیزالله ابراهیمی به پاس زحمات ایشان جهت ارتقای علم و معلومات و نیز به پاس محبت‌های که در مقام ر‌وا داشتند. از اساتید فرزانه سرکار خانم دکتر رویا مبییان استادیار محترم دانشکده علوم پزشکی شهرکرد که همواره مرا مورد لطف و محبت خویش قرار داد. جناب آقای دکتر غلامعلی کجوری که در دوران تحصیل از راهنمائیهای ارزنده ایشان برفوردار بوده و از استاد محترم جناب دکتر محمدرضا محزونیه کمال تشکر و قدردانی لازم می‌گردد. از زحمات بی‌شائبه جناب آقای دکتر عبدالله‌پور سرپرست بخش تحقیقات لپتوسپیروز دانشکده دامپزشکی تهران از پرسنل آزمایشگاهی بیمارستان دامپزشکی مردآباد کرچ که هیچگاه فراموششان نخواهم کرد و در انجام مراحل عملی پایان نامه، دلسوز و کوشا یاریم نمودند سپاسگزارم. از همکاریهای صمیمانه مسئول آزمایشگاهی شبکه بهداشت و درمان شهرستان فارس‌ان جناب آقای مشمت‌الله منصوری، جناب آقای محسن آذری پور پزشک دلسوز درمانگاه چمن‌گلی بازفت کارشناس محترم آزمایشگاه چمن‌گلی جناب آقای مرادیان نسب همچنین زحمات بی‌دریغ پدر عزیزم و برادر مهربانم آقای مهندس مهدی علیجانی که در انجام نمونه‌گیری از عشایر یاور راهم بودند. از همکاری اداره طرح و توسعه و مطالعات عشایری استان، سازمان امور عشایر استان، دفتر مطالعات و برنامه‌ریزی شهری استان جناب مهندس قهرمان روغنی همچنین از کارشناس محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی سرکار خانم شراره لطفلیان، آقای مسلم پورمسینی تشکر و قدردانی می‌نمایم و از صمیم قلب آرزوی کامیابی و بهروزی برای کلیه عزیزان دارم.

با اتکال به ایزد متعال و با استعانت از حضرت ذوالجلال این دفتر را آغاز میکنم و چشم امیدم به سوی اوست که با عنایت مبارک و رحمت بی دریغش مرا در این کار یاری فرماید .

تقدیم به :

میهنم ایران ، سرزمین احساسات پاک و عشایر غیور ایل بختیاری

تقدیم به پدر :

این واژه پر معنای زندگی ، اسوه ایثار و فداکاری ، او که رسم چگونه زیستن را به من آموخت .

تقدیم به مادر :

بهترین و عزیزترین آغازگر خوبیها ، او که با چراغ محبت و صمیمیت روشنی بخش مسیر خوشبختی ام بوده است .

تقدیم به :

تک ستاره آسمان زندگیم نامزدم

تقدیم به :

برادران عزیزم مهدی و هادی و خواهران مهربانم ثریا و معصومه و همسر برادرم و نور چشمم هومن که همواره در کنارم مایه دلگرمی و عطوفت بوده اند .

تقدیم به :

دوستان واقعی ام . یاران انگشت شمار و با وفای زندگیم ، دوستان دارم و خوشبختی زندگیتان را آرزومندم .

بررسی سرولوژیک لپتوسپیروز انسان در مناطق عشایری شهرستانهای فارسان و کوهرنگ

لپتوسپیروز یکی از بیماریهای مشترک بین انسان و گروه بزرگی از حیوانات می باشد. این بیماری در انسان باعث سپتی سمی و التهاب بافت بینایی کلیه ها و کم خونی که علت آن پاره شدن اریتروسیتها است می گردد. منبع عفونت در انسان معمولاً به طور مستقیم یا غیر مستقیم در اثر تماس با ادرار حیوان عفونی صورت می گیرد. چهار صد نمونه خون انسانی از مناطق عشایری شهرستانهای فارسان و کوهرنگ انتخاب شد. نمونه های سرما با استفاده از روش MAT آزمایش گردید. از کل ۴۰۰ نمونه ۵۲/۲۵٪ آلودگی به پنج لپتوسپیرائی (رقت ۱/۵۰) را نشان داد. بیشترین آلودگی مربوط به سرووار هارجو با ۲۶/۲۵٪ بود. از بین ۱۹۴ نمونه مثبت ۰/۵٪ با سرووار گریپوتیفوزا، ۵/۷۵٪ با سرووار کانیکولا و ۱۰٪ با سرووار پومونا، ۹/۷۵٪ با سرووار ایکتره و هموراژیه، ۲۶/۲۵٪ سرووار هارجو واکنش داد. کل نمونه های زن مثبت ۷۱٪ و مردان مثبت ۳۲/۵٪ (رقت ۱/۵۰) شد. بررسی مطالعه سرولوژیکی لپتوسپیروز انسان در فارسان و کوهرنگ نشان داد که زنان بیشتر از مردان آلوده می شوند.

۱	۱- بیان مسئله و اهمیت و لزوم انتخاب موضوع.....
۳	۲- فرضیه های تحقیق.....
۳	۳- محدودیتهای تحقیق.....
	فصل دوم کلیات.
۴	۲- ۱- تعریف بیماری.....
۵	۲- ۲- تاریخچه بیماری در جهان.....
۸	۲- ۳- تاریخچه بیماری لپتوسپیروز در ایران.....
۸	۲- ۴- طبقه بندی لپتوسپیراها.....
۸	۲- ۴- ۱- خانواده اسپروکتاسه آ.....
۹	۲- ۴- ۲- خانواده لپتوسپیروسه آ.....
۹	۲- ۴- ۳- باکتریولوژی.....
۹	۲- ۴- ۴- ۱- طبقه بندی سرولوژیکی.....
۱۰	۲- ۴- ۴- ۲- بیولوژی لپتوسپیروا.....
۱۰	۲- ۴- ۴- ۳- مطالعات ژنوتیپی.....
۱۱	۲- ۴- ۴- ۴- ریخت شناسی لپتوسپیروا.....
۱۲	۲- ۴- ۴- ۵- مقاومت لپتوسپیراها درمقابل عوامل فیزیکی و شیمیایی.....
۱۳	۲- ۵- اپید میولوژی و روش اشاعه.....
۱۵	۲- ۶- حیوانات حساس به لپتوسپیروز.....
۱۶	۲- ۷- علائم بالینی بیماری در حیوانات.....
۱۶	۲- ۷- ۱- علائم بالینی در گاو.....
۱۶	۲- ۷- ۱- ۱- لپتوسپیروز حاد.....
۱۷	۲- ۷- ۱- ۲- لپتوسپیروز تحت حاد.....
۱۷	۲- ۷- ۱- ۳- لپتوسپیروز مزمن.....
۱۸	۲- ۷- ۲- علائم بالینی در گوسفند و بز.....
۱۸	۲- ۷- ۳- علائم بالینی در اسب.....
۱۸	۲- ۷- ۴- علائم بالینی در سگ.....
۱۹	۲- ۷- ۵- علائم بالینی در گربه.....
۱۹	۲- ۸- علائم کلینیکی لپتوسپیروز در انسان.....
۱۹	۲- ۸- ۱- لپتوسپیروز غیرایکتریک.....
۲۰	۲- ۸- ۲- لپتوسپیروز ایکتریک.....
۲۲	۲- ۸- ۳- اختلالات چشمی.....
۲۲	۲- ۸- ۴- عوارض دیگر.....
۲۲	۲- ۹- تشخیص افتراقی.....
۲۳	۲- ۱۰- تشخیص آزمایشگاهی.....
۲۳	۲- ۱۰- ۱- یافته های آزمایشگاهی در انسان.....
۲۳	۲- ۱۱- ۱- آثار کالبد گشائی در انسان.....

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۲۴.....	۱۲-۲- درمان در انسان
۲۵.....	۱۳-۲- ایمنی زائی در انسان
۲۶.....	۱۴-۲- درمان در دام
۲۷.....	۱۵-۲- واکسینا سیون درد دام
۲۸.....	۱۶-۲- زمان واکسیناسیون
۲۹.....	۱۷-۲- پیشگیری و کنترل بیماری در جمعیت‌های دامی
۲۹.....	۱۷-۲-۱- ریشه کنی
۳۰.....	۱۷-۲-۲- کنترل
۳۰.....	۱۸-۲- مدیریت و بهداشت

فصل سوم

۱.....	۳- روش‌های آزمایشگاهی تشخیص لپتوسپیروز
۳۱.....	۳-۱- روش‌های آزمایشگاهی
۳۲.....	۳-۲- نمایش میکروسکوپی
۳۲.....	۳-۳- رنگ آمیزی بررسی نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری
۳۳.....	۳-۳-۱- شرایط رنگ آمیزی
۳۴.....	۳-۳-۲- جدا سازی لپتوسپیروز
۳۴.....	۳-۳-۳- آزمایش نمونه‌های مشکوک با استفاده از میکروسکوپ زمینه تاریک
۳۵.....	۳-۳-۴- آزمایش تزریق داخل جلدی لپتوسپیرین
۳۵.....	۳-۳-۵- آزمایش‌های سرولوژیک و سایر آزمایش‌های مرتبط
۳۵.....	۳-۳-۶-۱-۷- آزمایش سریع آگلوتینا سیون بر روی لام
۳۶.....	۳-۳-۷-۲- آزمایش آگلوتینا سیون میکروسکوپی
۳۷.....	۳-۳-۷-۳- روش آگلوتینا سیون میکروکپسولی
۳۸.....	۳-۳-۷-۴- الیزا
۳۸.....	۳-۳-۷-۵- روش ثبوت مکمل
۳۹.....	۳-۳-۷-۶- روش فلورسنت آنتی بادی

فصل چهارم

۴۰.....	۴- وسایل و مواد مورد نیاز و روش انجام کار
۴۰.....	۴-۱- روش نمونه گیری و تعداد نمونه‌ها
۴۰.....	۴-۲- مواد و وسایل مورد نیاز
۴۱.....	۴-۳- روش کار
۴۱.....	۴-۳-۱- تهیه آنتی ژن جهت انجام آزمایش
۴۴.....	۴-۳-۲- تهیه محلول رقیق کردن نمونه‌های سرمی
۴۴.....	۴-۳-۳- ترکیب سرم و آنتی ژن
۴۵.....	۴-۳-۴- تهیه نمونه‌های شاهد
۴۵.....	۴-۳-۵- آزمایش میکروسکوپی توسط میکروسکوپ زمینه تاریک
۴۵.....	۴-۳-۶- میزان آگلوتیناسیون
۴۶.....	۴-۳-۷- اندازه گیری تیتراژ پادتن

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

فصل پنجم: نتایج و بحث

۵-۱- نتایج ۴۷

۵-۲- بحث ۵۰

نمودارها ۶۴

پیشنهادات

منابع و مأخذ

فصل اول

مقدمه

۱- بیان مسئله و اهمیت و لزوم انتخاب موضوع

لپتوسپیروز یک زئونوز با انتشار جهانی است و معمولاً آلودگی انسان بعد از تماس با آب و خاک حاوی ادرار جوندگان عفونی و سایر حیوانات صورت می گیرد. (۱۴-۵۱) شدت این بیماری از خفیف تا سریعاً کشنده فرق می کند. اشکال خفیف، اغلب اشتباهی تشخیص داده می شود یا نادیده تصور می شود و اشکال شدید با انتشار به کبد، نارسایی حاد کلیوی و سندرم خونریزی دهنده توصیف می شود. (۱۴-۱۷)

چون لپتوسپیروز علائم متغیر بالینی دارد، تستهای سرولوژی مثل تست میکروآگلوتیناسیون (MAT) برای تشخیص لازم هستند و اخیراً آزمایش PCR برای تشخیص استفاده می شود. (۲۵)

لپتوسپیروز جوندگان وحشی و حیوانات اهلی مثل گاو، خوک، اسب، گوسفند و بز و سگ را تحت تاثیر قرار می دهد. (۲۷)

لپتوسپیروز توسط نوعی اسپiroکت (spirocheat) از خانواده لپتوسپیراسه آ (Leptospiraceae) ایجاد می شود. به طور کلی این بیماری در زمینهای قلیائی که آبهای سطحی فراوان دارد بیشتر بروز می کند، این بیماری در مناطقی که دارای آب و هوای گرم و فصل گرم و مرطوب هستند، شایع تر است. جوندگان وحشی در انتقال و انتشار عامل این بیماری نقش بسیار مهمی دارند، به طوری که باعث شده

بیماری در سراسر جهان انتشار پیدا کند. این بیماری موجب سپتی سمی، تورم بافت بینا بینی کلیه ها، کم خونی در نتیجه پاره شدن گلبول قرمز و سقط جنین می شود. لپتوسپیروز از بیماریهای عفونی است که در انسان، گاو، گوسفند و اسب با علائم کلینیکی ظاهر می شود و بسته به سروتیپ عامل بیماری و سن میزبان علائم مختلفی را ایجاد می کند. در انسان بیماری از فرم خفیف تا شدید بروز می کند. بیماری با علائم خفیف شبیه آنفولانزا تا اشکال شدید خونریزی دهنده ظاهر می شود. و ارگانهای حیاتی مثل کبد، کلیه و ریه را درگیر می کند. (۳۳)

وجود زندگی عشیره ای و ایلی در بین ساکنین منطقه مورد مطالعه و عدم امکان دسترسی به مراکز بهداشتی - درمانی به خصوص در فصل سرما و یخبندان سبب می گردد که عشایر این استان همواره در معرض بیماریهای مختلف قرار داشته باشند. مطالعه وضعیت بهداشت و درمان منطقه گویای آن است که با وجود آنکه تعدادی از روستاهای منطقه از آب لوله کشی استفاده می کنند. به علت عدم تفکیک محل زندگی دام و انسان آن هم به خاطر اشتغال و شیوه زندگی اهالی بیماریهای مشترک بین انسان و دام در بسیاری از نقاط منطقه شایع می باشد. منابع آب مورد استفاده عشایر ساکن در منطقه عمدتاً چشمه سارها و رودخانه ها می باشد، که جهت استفاده مشترک افراد و دامهایشان به کار می رود. با توجه به اینکه دام جزء لاینفک زندگی عشایری است بسیاری از بیماریهایی که عشایر بدانها مبتلا می شوند بیماریهای مشترک بین انسان و دام می باشند در تعداد کثیری از جمعیت روستایی و عشایری جایگاه دام و انسان مشترک بوده و این علت اصلی شیوع بیماریهای زئونوز در بین آنهاست. (۱۲)

جامعه عشایری به آن بخش از جامعه استان گفته می شود، که به دلیل معیشت گله داری و نیاز به چرای دام زمستانها را بدنبال علف و آب در هوای معتدل فصل بهار و تابستان را در حوزه های سردسیری (بیلاق) سپری می کنند. عشایر اصلی و عمده استان را عشایر بختیاری تشکیل می دهند. شغل اصلی عشایر دامداری بوده و عده ای نیز به کشاورزی می پردازند. بیشتر گوسفند و بز و عده ای نیز به پرورش گاو می پردازند. ایل بختیاری به دو بخش یعنی ایل بزرگ هفت لنگ و چهار لنگ تقسیم می گردند. زمان کوچ آنها اغلب ماه مهر و آبان است. نمونه گیری از مناطق عشایری شهرستان کوهرنگ نظیر: عشایر دهستان بازفت که شامل: روستاهای مورز، تلخه دان - چمن گلی - تلورد - تبرک علیا - باغ چنار - دهناش - لبد - هوشوت - تیک - باغکاری - کچوز - گراب - سنگرا انجام شد همچنین دهستان دو آب صمصامی - شهریاری - بیرگان و چلگرد که شامل:

روستاهای شیخ علی خان - دیمه - خانی آباد - دهنو علیا - قلعه کوشکک - ملک آباد - بهرام آباد -
خویه - صالح کوتاه - سر آقا سید - محمد آباد - دشت زرعی - گرد و صورت گرفت و به دنبال آن از
مناطق عشایری فارسان نظیر: ده چشمه - جونقان - باباحیدر - فیل آباد نمونه گیری شد.

از نظر آب و هوایی با توجه به چهره طبیعی، موقعیت جغرافیائی و ارتفاع، منطقه جزء مناطق سردسیر
بوده و آب و هوای کوهستانی دارد، پوشش گیاهی متفاوت بوده و مراتع در سطح منطقه دیده می شود.
درختچه های متراکم گون - گیاهان داروئی - انبوه درختان بلوط - پسته وحشی - زالزالک - بید - چنار -
زبان گنجشک - افرا - انجیر کوهی - سماق در منطقه به چشم می خورد، ۹۸٪ پوشش عمده جنگلی را
در این مناطق بلوط تشکیل می دهد. در چلگرد - بازفت و شهریاری درختچه های نسبتاً متراکم
گسترش یافته است. و متوسط درجه حرارت سالانه ۱۶-۴ درجه سانتیگراد است (۱۳).

لذا بر آن شدیم تا با بررسی سرولوژیک این بیماری در بین عشایر شهرستانهای فارسان و کوهرنگ
وضعیت بیماری را بررسی نماییم. امیدواریم کمکی هر چند ناچیز به بهبود شرایط بهداشتی آن
منطقه محروم بنمائیم.

۲- فرضیه های تحقیق

۱-۲-۱- آلودگی به لپتوسپیرا در دامهای منطقه وجود دارد.

۱-۲-۲- سروتیپهای مختلف در ایجاد این آلودگی نقش دارند.

۱-۲-۳- در منطقه مورد مطالعه بیماری در انسان وجود دارد.

۳- محدودیت های تحقیق

۱-۳-۱- نبودن آزمایشگاه و وسایل آزمایشگاهی جهت انجام آزمایش در محل

۱-۳-۲- مشکل بودن نمونه گیری از عشایر منطقه

۱-۳-۳- هزینه مربوط به آزمایشات سرولوژی میکرو آگلوتیناسیون

فصل دوم

تعریف بیماری لپتوسپیروزیس

۱-۲ - تعریف بیماری

لپتوسپیروز در حال حاضر یکی از بیماریهای عفونی است که به طور ناگهانی تشخیص داده می‌شود. شیوع فراوان آن در نیکاراگوئه (۱۰-۲۵-۱۷-۱۴-۵۱) - برزیل و هند (۲۷) و جنوب شرق آسیا و ایالات متحده (۲۹-۳۲) گزارش شده است. در گزارشات پزشکی بیماری به عنوان Emerging infections نام برده شده است. (۳۵)

لپتوسپیروز یکی از بیماریهای عفونی باکتریال شایع دامها بوده و انسان نیز به آن مبتلا می‌شود. بر اساس رفرانسهای جمع آوری شده و گزارشات سازمان دامپزشکی این بیماری در اغلب نقاط کشور وجود دارد و لیکن از نظر پزشکی در این خصوص مطالعات قابل توجه انجام نشده است. آسمار و همکاران با بررسی مقدماتی سرولوژیک لپتوسپیروز انسان در استان مازندران وضعیت بیماری را در منطقه مشخص نمودند. (۵)

لپتوسپیروز به وسیله میکروبی از جنس لپتوسپیرا^۱ منتقل می‌شود. لپتوسپیروز از دو کلمه یونانی لپتو به معنای باریک و نازک و اسپیرا به معنای پیچیده که نشان دهنده شکل ظاهری باریک، و پیچدار این ارگانیزم است تشکیل شده است. ارگانیزم های این جنس گرم منفی هستند و با رنگ آمیزی آنیلین به

(1) Leptospira

خوبی رنگ پذیر هستند. بهترین درجه حرارت برای رشد ۲۸ تا ۳۰ درجه سانتی گراد است. این بیماری موجب سپتی سمی، تورم بافت بینابینی کلیه ها، کم خونی در نتیجه پاره شدن گلبول قرمز و سقط جنین در انواع حیوانات می گردد. (۷۱)

۲-۲- تاریخچه بیماری در جهان

لپتوسپیروزیس بیماری مشترک انسان و دام بوده که در همه جا حضور دارد. تظاهرات بیماری در انسان کاملاً سریع است و از عفونت تحت کلینیکی تا یک سندرم شدید متغیر می باشد عفونت همزمان در چند ارگان با میزان مرگ و میر بالا همراه است. سندرم خونریزی دهنده^(۱) لپتوسپیروز با نارسایی کلیوی اولین بار در ۱۰۰ سال قبل به وسیله ادلف ویل^(۲) در Heidol berg توصیف شد. (۱۲) پروفیسور آدلف ویل اولین کسی است که در سال ۱۸۸۶ به مطالعه بیماری فوق اقدام نمود به همین علت این بیماری به افتخار وی بیماری ویل نامیده شد. (۲)

ویل این بیماری را با بیماریهای یرقان نزله ای نفریت اولیه یرقان نزله ای توام با نفریت اولیه یرقان توام با بزرگ شدن کبد، تب های عفونی و سپتی سمی مقایسه کرد و به نتایج ارزشمندی دست یافت. (۱۴-۱۵-۱۶-۳)

لپتوسپیروزیس و ارتباط آن با مزارع برنج در چین باستان در افراد شالیکار مشخص شد. (۱۸) در ژاپن به نام akiyami یا تب پائیزه نامگذاری گردید. در اروپای شرقی شخصی به نام west ward لپتوسپیرا اینتروگانس سرووار ایکتروهموراژیک را توصیف نمود. (۷۱) در سال ۱۸۹۹ یانگ این بیماری را در انسان با علائم یرقان قطع ادرار گود رفتن چشم - سیاه شدن مدفوع و بهبودی پس از ۵ روز تشخیص داد. (۲۰) در سال ۱۸۹۹ کلت بیماری را در سگ با علائم گاستروانتریت تشخیص و توضیح داد و آن را بیماری اشتوتگارت نامید. (۲)

(1) hemorrhagic syndrom

(2) Adlof weil