Review

Leptospirosis or Rice Field Fever: A review on the pathogenesis

Alireza Rafiei[1]*, Omolbanin Amjadi[1], Farhang Babamahmoodi[2]

1. Molecular and Cell Biology Research Center, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
2. Antimicrobial Research Center, Department of Infectious diseases, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
*. Corresponding Author: E-mail: Rafiei1710@gmail.com

(Received 12 December 2013; Accepted 10 February 2014)

Abstract

Leptospirosis is a serious zoonotic infection and the most prevalence disease in tropical and subtropical region such as north of Iran. Leptospires can gain entry into humans through different ways and it is associated with a very broad spectrum of clinical manifestations. Patients are asymptotic or present influenza-like illness symptoms in the first phase of infection; therefore early diagnosis is faced to quite difficulty. Generally, lack of early diagnosis lead to disease progression and make it difficult to treat. However, it is possible to reduce and/or prevent infection development and its treatment by timely and successful early diagnosis. Increasing our knowledge in the pathogenesis and diagnostic methods of leptospirosis is essential not only because of more complication and severe forms of the disease occur due to lack of timely diagnosis but also the awareness of the leptospirosis among general physicians and health works are not satisfied. The aim of this review is to improve knowledge about pathogenesis of leptospira and accurate and timely detection, these will affect in adaptation the best therapeutic strategies particularly in endemic region and among high risk peoples.

Keywords: Leptospirosis, Pathogenesis, Immune response, Weil's syndrome, Microaglutination test

J Clin Exc 2014; 2(1):23-39 (Persian).

لپتوسپیروز یا تب شالیزار- مروری بر پاتوژنز

علیرضا رفیعی[۱]*، ام‌البنین امجدی[۱]، فرهنگ بابا محمودی[۲]

چکیده

لپتوسپیروزیس یکی از بیماری‌های مشترک بین انسان و دام است که شیوع آن در مناطق گرمسیری، نیمه گرمسیری و معتدل همانند نواحی شمالی ایران، بالاست. این باکتری راه های متعددی برای ورود به بدن داشته و طیف وسیعی از علائم را بروز می‌دهد. علائم اولیه این بیماری مشابه آنفولانزا است، به همین دلیل تشخیص اولیه آن مشکل بوده و در بسیاری از موارد عدم تشخیص درست و به موقع سبب پیشرفت بیماری و دشوار شدن درمان آن می‌گردد، درحالی‌که با تشخیص به هنگام می‌توان عوارض ناشی از بیماری را کاهش داد. با توجه به مشکلات ناشی از عدم تشخیص به موقع بیماری نظیر ابتلا به سندرم ویل، عوارض بیماری و هزینه های مختلف ناشی از ابتلا به لپتوسپیروز و هم چنین ناکافی بودن سطح آگاهی پزشکان و پرسنل بهداشتی نسبت به این بیماری، به نظر می‌رسد بررسی این بیماری به ویژه از لحاظ نحوه بیماری‌زایی و راه های تشخیص آن، می‌تواند نقش موثری در ایجاد شناخت بهتر این بیماری داشته باشد. این مطالعه مروری با هدف افزایش شناخت از مکانیسم‌های بیماری‌زایی، تشخیص صحیح و به موقع بیماری، می‌تواند در اتخاذ راهکارهای درمانی مناسب و موثر به خصوص برای مناطق و مشاغل در خطر مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: لپتوسپیروز، پاتوژنز، پاسخ ایمنی، سندروم ویل، تست میکروآگلوتیناسیون

مقدمه

لپتوسپیروز بیماری حاد تب داری است که توسط اسپیروکت های جنس لپتوسپیرا Leptosipira ایجاد می‌گردد. لپتوسپیرا از دو واژه‌ی یونانی Lepto به معنی باریک و واژه‌ی لاتین Spira به معنی مارپیچ گرفته شده است(۱). این باکتری مارپیچ، بلند و باریک با انتهای قلابی شکل می‌تواند به صورت آزاد در محیط و هم چنین به صورت انگل در بدن حیوانات زندگی کند(۲). به طور کلی دو جنس از لپتوسپیرا وجود دارد، لپتوسپیرا اینتروگانس که گونه‌ی پاتوژن می‌باشد و لپتوسپیرا بیفلکسا که گونه‌ی ساپروفیت و غیربیماری‌زا است. لپتوسپیراهای بیماری‌زا بسیار متنوع هستند و حدود ۲۵۰ سروار از آن‌ها شناخته شده است که بیشترین سرووارهای بیماری‌زا متعلق به گونه اینتروگانس است(۳). لپتوسپیرا اینتروگانس دارای ۲۳ سروگروپ و تقریباً ۲۱۰ سروار است(۴). انواع سرووارهای بیماری‌زا شامل ایکترهموراژیه، هارجو، کانیکولا، گریپوتیفوزا، بالوم، پومونا، براتیسلاوا، کوپنهاگنی، لای، اوسترالیس، سجروئه هبدومادیس، پیروژنز جزء گونه‌ی اینتروگانس می‌باشند(۵).

شناسایی و طبقه بندی لپتوسپیراها به دلیل این که از

۱. مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. مرکز تحقیقات مقاومت‌های میکروبی، گروه عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
* نویسنده مسئول: مازندران، ساری، میدان خزر، کیلومتر۱۷ جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده پزشکی، گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی. تلفن: ۰۱۵۱۳۵۴۳۰۸۸ E-mail: Rafiei1710@gmail.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۲۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۲/۱۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۲۱

نظر میزبان‌های مختلف اختصاصی عمل می‌کنند حائز اهمیت می‌باشد. لپتوسپیرا به محیط‌های مرطوب برای زندگی نیاز دارد و قادر است ماه‌ها در محیط‌های گل آلود زندگی کند اما تنها به مدت چند ساعت در آب‌های شور زنده می‌ماند(۶). لپتوسپیروز بیماری مشترک بین انسان و دام می‌باشد که انتشار جهانی دارد اما شیوع آن در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری بیشتر است(۷). این بیماری بازپدید شایع‌ترین بیماری مشترک بین انسان و دام در دنیاست. منبع لپتوسپیراها جوندگان و پستانداران خانگی هستند که باکتری را در توبول های کلیوی نگهداری می‌نمایند و این ارگانیسم را از طریق ادرار وارد محیط می‌کنند. آلودگی انسان‌ها از طریق تماس مستقیم با ادرار حیوانات آلوده و یا به صورت غیرمستقیم از طریق آب‌های آلوده به ادرار حیوانات صورت می‌گیرد(۸). فعالیتهای شغلی مرتبط با حیوانات، از طریق تماس با بافت‌های آلوده حیوانات و هم چنین مایعات بدن نیز می‌تواند سبب انتقال این ارگانیسم به انسان‌ها شود(۹). باکتری‌های لپتوسپیرا می‌توانند از طریق غشاهای مخاطی چشم، بینی، گلو و هم چنین بریدگی و خراشیدگی‌های پوست وارد بدن شوند، شایع‌ترین راه انتقال بیماری در کشاورزان از این طریق است.

به دلیل شرایط آب و هوایی مناطق شمالی ایران، شیوع این بیماری در این نواحی زیاد است. در بررسی وضعیت آلودگی آب‌های راکد و آب بندان ها به لپتوسپیرا که اخیراً صورت گرفت، مشخص شد بیش از ۷ درصد آبندان های مورد ارزیابی در استان مازندران به گونه های پاتوژن لپتوسپیرا آلوده‌اند (اطلاعات منتشر نشده است). با این حال لپتوسپیروز عمدتاً یک بیماری شغلی در این مناطق محسوب می‌گردد(۱۰). از بین گروه‌های شغلی در معرض خطر، کشاورزان بیشترین درصد ابتلا به این بیماری را دارند و کمترین میزان آن هم مربوط به کارکنان کشتارگاه‌ها است(۱۱). با توجه به بومی بودن این بیماری در مناطق شمالی و افزایش شیوع بیماری در فصول فعالیت کشاورزی، می‌توان با تشخیص درست و به موقع، مرگ و میر ناشی از آن را کاهش داد. یکی از راه‌های رسیدن به این هدف افزایش آگاهی پزشکان نسبت به این بیماری است. در بررسی که در سال ۱۳۹۱ از پزشکان به منظور ارزیابی سطح آگاهی آنان انجام گرفت مشخص شد که میزان آگاهی پزشکان استان مازندران نسبت به این بیماری به خصوص روش‌های تشخیصی مربوط به آن پایین است(۱۲).

در این مطالعه مروری سعی شده است تا این بیماری به خصوص مکانیسم بیماری‌زایی و انواع راه‌های تشخیصی آن به صورت جامع‌تری مورد بررسی قرار بگیرد.

مکانیسم بیماری‌زایی

تقریباً اکثر منابع به نامشخص بودن دقیق مکانیسم بیماری‌زایی این باکتری اشاره کرده‌اند. علی رغم سروارهای متعدد لپتوسپیرا و تنوع گونه های میزبان، مراحل کلیدی بیماری‌زایی آن در همه‌ی گونه های مشابه است. لپتوسپیراها از طریق بریدگی، خراشیدگی و زخم‌های پوستی یا مخاطی وارد بدن می‌شوند. این ارگانیسم در برابر دفاع ایمنی ذاتی مانند سیستم کمپلمان مقاومت کرده و در جریان خون تکثیر می‌گردد و از این طریق وارد همه ارگان‌ها می‌شوند. زمانی که آنتی بادی‌ها در بدن تولید شدند، لپتوسپیراهای موجود در خون ناپدید می‌شوند اما در اندام‌هایی نظیر مغز(عمدتاً در مننژ)،کبد، ریه، قلب و کلیه زنده می‌مانند. سیکل زندگی این ارگانیسم زمانی کامل می‌شود که لپتوسپیراها فضای بینابینی کلیه را طی کرده و به توبول های کلیوی پروکسیمال نفوذ کنند. سپس از میان سلول‌های اپیتلیال توبول های کلیوی پروکسیمال عبور کرده و به حاشیه برونی آن متصل می‌شوند و در این زمان از طریق ادرار از بدن خارج می‌شوند(۱۳).

توانایی این باکتری در سازگاری با شرایط آب و هوایی معتدل و خاک‌های قلیایی، ورود و نفوذ به بدن، مهاجرت درون بافت‌های بدن میزبان و هم چنین سازگار شدن با شرایط بدن میزبان در بروز و انتشار سریع بیماری

موثر است. فاکتورهای ویرولانس زیادی در بیماری‌زایی و ایجاد عفونت باکتری‌های لپتوسپیرا شرکت دارند مانند لیپوپلی ساکارید یا LPS، همولیزین، پروتئین‌های غشای خارجی (OMP) و سایر پروتئین های سطحی و مولکول‌های اتصالی.

اجزای ویرولانس و آنتی ژنیک نظیر لیپوپلی ساکارید، لیپوپروتئین و پپتیدوگلیکان که عمدتاً در غشای خارجی این باکتری وجود دارد. نحوه قرارگیری غشای خارجی در سطح باکتری در تعامل میزبان-پاتوژن نقش موثری دارد. باکتری‌های لپتوسپیرا همانند سایر اسپیروکت ها دارای یک غشای دو لایه مجزا هستند که خصوصیات باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت را از خود نشان می‌دهند(۱۴)، اما غشای سیتوپلاسمی در این باکتری ارتباط نزدیکی با لایه نازک پپتیدوگلیکانی دارد و برخلاف باکتری‌های گرم منفی غشای خارجی آن سیال و ناپایدار است، با این حال عمدتاً این باکتری را گرم منفی در نظر می‌گیرند. لیپوپلی ساکارید باکتری های لپتوسپیرا اساس شناسایی سرووار و هدف ایمنی اکتسابی است. اتصال باکتری‌های لپتوسپیرا به بافت‌های میزبان اولین و ضروری‌ترین مرحله در ایجاد عفونت و بیماری‌زایی است. نحوه اتصال به سلول‌های میزبان و اجزای غشای خارجی باکتری نقش به سزایی در نفوذ، انتشار و زنده ماندن باکتری در بافت‌های میزبان پستاندار خواهد داشت. اجزای سطحی باکتری‌های لپتوسپیرا قادر به شناسایی مولکول‌های چسبنده ماتریکس بین سلولی بوده و از این طریق در میزبان ساکن می‌شوند(۱۵). بعد از ورود باکتری به بدن، لپتوسپیراها بلافاصله وارد جریان خون می‌شوند که "لپتوسپیرمی" گفته می شود. این مرحله ۷ الی ۱۰ روز طول می‌کشد. در طول این مدت می‌توان باکتری‌ها را از خون جدا نمود. ۱۰ روز بعدازآغاز بیماری، آنتی بادی ها را می‌توان در سرم شناسایی کرد. باکتری‌ها وارد مجاری کلیوی می‌شوند و از طریق ادرار دفع می‌گردند که "لپتوسپیروری" گویند. این مرحله می‌تواند مدت‌ها طول بکشد و در طی این مدت بیماری منتقل می‌گردد. دوره‌ی نهفته بیماری بین ۲ تا ۲۰ روز متفاوت است.

پروتئین‌های غشای خارجی (Outer Membrane Proteins: OMPs) باکتری که خود به عنوان اهداف آنتی ژنی یا اتصالی برای آنتی بادی‌های ضد باکتریایی محسوب می‌شوند، به عنوان گیرنده مولکول‌های مختلف میزبان و یا به عنوان پورین عمل می‌کنند و از این طریق نقش مهمی در بیماری‌زایی این باکتری‌ها دارند. پروتئین‌های سطحی خارجی به دلیل موقعیت خود، گزینه مناسبی برای اتصال لپتوسپیرا می‌باشند. انواع پاتوژن این باکتری‌ها پروتئین‌هایی را بیان می‌کنند که حداقل به صورت نسبی در سطح بیان می‌شوند. (Leptospiral Immunoglobulin-like protein) LigA، LigB و LigC که از جمله این پروتئین‌ها هستند، دارای بخش های مشابه با ساختار دمین‌های ایمونوگلوبولینی در باکتری‌های لپتوسپیرا می‌باشند(۱۶). این پروتئین‌ها هنگام تهاجم و اتصال باکتری‌ها به سلول سبب تعامل باکتری‌ها با سلول‌های میزبان شده و منحصراً در لپتوسپیراهای بیماری زا دیده می‌شوند(۱۷). LigA و LigB به اجزای ماتریکس خارج سلولی مثل الاستین، تروپوالاستین، کلاژن I و IV، لامینین و خصوصاً فیبرونکتین متصل می‌شوند(۱۸). اتصال به فیبرونکتین توسط کلسیم تنظیم می‌شود(۱۵) و این تعامل توسط سه موتیف موجود در LigB صورت می‌گیرد(۱۸). آزمایشات ژنتیکی نشان داده‌اند که جهش در LigB تأثیری در ویرولانس و استقرار باکتری در فرم مزمن بیماری ندارد(۱۹)، اما دو پروتئین دیگر خصوصاً LigA برای ایجاد عفونت ضروری هستند. این پروتئین به همراه سایر مولکول‌های اتصال دهنده در اتصال لپتوسپیرا نقش دارد.

لیپوپروتئین ۳۲ کیلو دالتونی LipL32 که نوعی پروتئین غشای خارجی باکتری محسوب می‌شود و در گونه‌های بیماری زا بسیار حفاظت شده است، تنها در سوش های بیماری زا وجود دارد و در طی عفونت بیان می‌شود(۲۰). LipL32 به کلاژن‌های I، IV و V و

همچنین به لامینین متصل می‌شود(۲۱) و از طریق مسیر وابسته به کلسیم به فیبرونکتین اتصال می‌یابد(۲۲). Loa22 نیز از اجزای اصلی غشای خارجی باکتری است و اولین فاکتور ویرولانس در لپتوسپیرا می‌باشد که از لحاظ ژنتیکی تعریف شد(۲۳)، این لیپوپروتئین دارای موتیف متصل شونده به پپتیدوگلیکان مشابه به OmpA می‌باشد(۲۴). Loa22 که تنها پروتئین مشابه OmpA می‌باشد، در بین لپتوسپیرا های بیماری زا بسیار حفاظت شده است که نشان‌دهنده نقش مهم آن در بیماری‌زایی است. این پروتئین سبب بروز پاسخ ایمنی در بیماران شده و بیان آن در طی عفونت حاد افزایش می‌یابد(۲۵). انتهای کربوکسیلی این پروتئین قادر به اتصال به لامینین، کلاژن II، IV، V و فیبرونکتین های پلاسما است(۲۱). Omp1L به عنوان یک پورین عمل می‌کند(۲۶). LenA، B، C، D، E و F پروتئین های مرتبط به تهاجم و مهاجرت باکتری هستند که قادرند به اجزای ماتریکس خارج سلولی نظیر لامینین متصل شوند(۲۷). به طور کلی پروتئین های نامبرده شده به دلیل ایفای نقش در اتصال باکتری به سلول میزبان، توانایی تبدیل شدن به فاکتور ویرولانس را دارند. توانایی لپتوسپیرا در نفوذ و انتشار به بافت‌های پستانداران نیز وابسته به توانایی آن‌ها در اتصال به سلول‌ها و هم چنین اتصال به ماتریکس خارج سلولی است(۲۸).

یکی از مکانیسم‌های ویرولانس لپتوسپیرا توانایی تحرک و شنا کردن در محیط‌های ویسکوز است(۹). حرکت باکتری‌ها نقش مهمی در مراحل بیماری‌زایی دارد و توانایی تحرک سریع آن‌ها در محیط‌های چسبنده به آن‌ها اجازه می‌دهد که از سلول‌های اپیتلیال عبور کنند(۲۹). تحرک در آغاز عفونت و انتشار ارگانیسم از محل ورود به اندام‌های هدف نظیر کبد، کلیه، چشم، ریه و مغز اهمیت دارد. از ۴۷۶۸ ژن شناخته‌شده در توالی ژنوم لپتوسپیرا، حدود ۵۰ درصد از آن‌ها مربوط به تحرک است. علاوه بر توانایی تحرک، این باکتری‌ها دارای پروتئین های کموتاکسی هستند که این پروتئین‌ها باکتری‌ها را قادر می‌سازند تا با بافت‌های بدن میزبان سازگار شده و از میان آن‌ها مهاجرت کنند(۳۰). انواع بیماری‌زای این باکتری‌ها توانایی کموتاکسی به سمت هموگلوبین‌ها را دارند. از دیگر توانایی‌های این باکتری داشتن فاکتورهای ویرولانسی است که مراحل مهاجرت و سازگاری با بافت‌های بدن را برای باکتری آسان می‌کند(۳۱).

توانایی تحرک و تهاجم لپتوسپیرا علاوه بر پروتئین های غشای خارجی به واسطه وجود LPS است. در مجموع خاصیت آندوتوکسینی LPS لپتوسپیرا در مقایسه با LPS باکتری‌های گرم منفی کمتر است که احتمالاً به دلیل نوع لیپید A می‌باشد. لیپید A موجود در LPS لپتوسپیرا دارای ترکیب نامعمولی از اسید چرب و دنباله فسفات حاوی متیل است(۳۲). علاوه بر لیپید A، بخش گلیکوپروتئینی آن هم دارای فعالیت سمی است(۳۳). لپتوسپیراها، اسپیروکتهای به شدت هوازی هستند و به آمونیاک به عنوان منبع نیتروژن(۳۴) و اسیدهای چرب زنجیره بلند به عنوان تنها منبع کربن و سوخت نیاز دارند(۳۵)، این باکتری‌ها انرژی خود را از طریق بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب بدست می‌آورند. لیپتوسپیراها متابولیسم عجیبی دارند و می‌توانند لیپیدهایی نظیر اسیدهای چرب را ذخیره کنند که بعضی از آن‌ها در ارتباط با گلیکوپروتئین هایی نظیر اولئیک و لینولئیک و بعضی هم با LPS و LLS (Substance Llipopolysaccharide-like: ترکیبات مشابه با LPS)مانند پالمیتیک و اولئیک مرتبط هستند(۳۳). فعالیت سمی LPS و گلیکوپروتئین های لپتوسپیرا نقش مهمی در بیماری‌زایی این باکتری ایفا می‌کند.

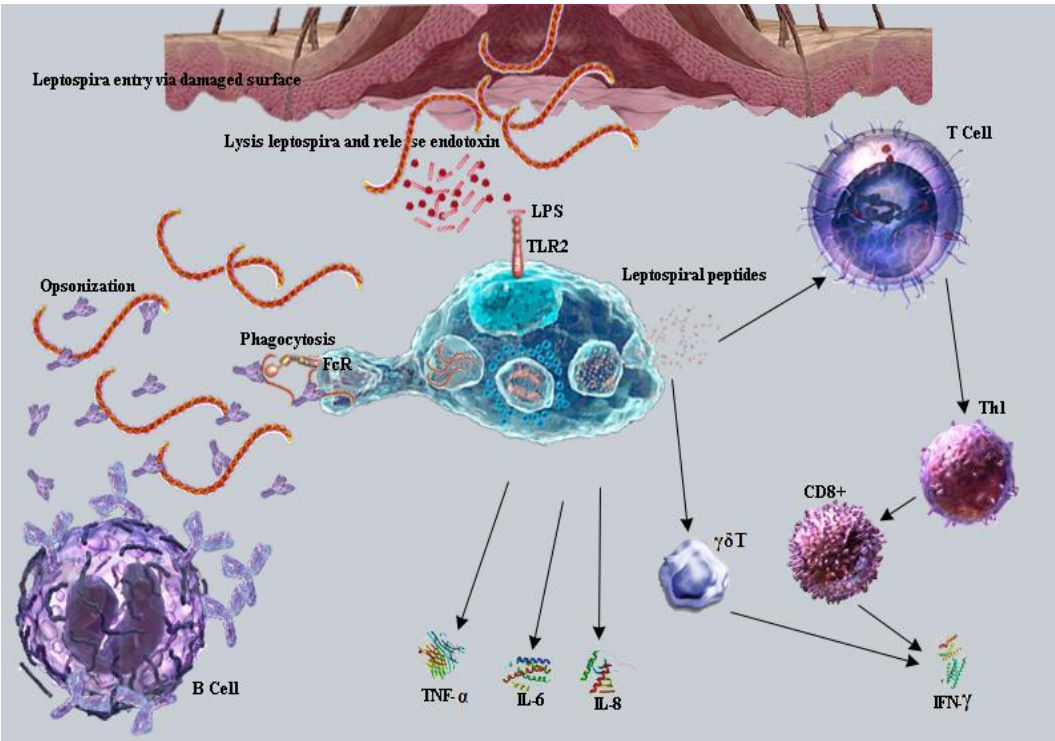
پاسخ سیستم دفاعی بدن در لپتوسپیروز

اولین سد دفاعی میزبان یعنی ایمنی ذاتی نقش مهمی در شناسایی و حذف لپتوسپیرا ایفا می‌کند. بعد از وارد شدن باکتری به بدن، سیستم ایمنی بدن باکتری‌ها را لیز کرده و بسیاری از آنتی ژن‌های آن نظیر گلیکوپروتئین GLP و LPS را آزاد می‌کند. GLP سلول‌های التهابی

نظیر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی(Peripheral PBMC :Blood Mononuclear Cell) را فعال کرده و سبب افزایش تولید TNF-α و IL-6 می‌گردد(۳۶). علاوه بر این تولید مولکول اتصالی CD69، ترشح پروستاگلاندین E2، لکوترین B4 و نیتریک اکساید نیز افزایش می‌یابد(۳۷). بعد از تهاجم لپتوسپیراها، باکتری‌ها توسط گیرنده‌های شناساگر پاتوژن (Pathogen Recognition Receptor: PRR) شناسایی می‌شوند که الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژنها را تشخیص می‌دهند. به طور کلی گیرنده‌های شناساگر پاتوژنها یا PRRs به سه دسته بنام‌های گیرنده‌های ترشحی، انتقال پیام و اندوسیتوزی طبقه‌بندی می‌شوند. یکی از گیرنده-های انتقال پیام گیرنده‌های شبه Toll یا (Toll-like Receptor: TLR) ها هستند. LPS باکتری توسط گیرنده‌های شبه Toll(TLRها) موجود در سطح سلول-های بیگانه خوار شناسایی می‌گردد. بیشترین مطالعات در مورد لپتوسپیروز بر روی TLR2 و TLR4 انجام شده است. به طور کلی TLR4 با شناسایی LPS باکتری‌های گرم منفی فعال‌شده و پاسخ وابسته به کموکاین ها و سایتوکاین های پیش التهابی را فعال می‌کند. با توجه به کم بودن خاصیت آندوتوکسیک LPS لپتوسپیرا در مقایسه با سایر باکتری‌های گرم منفی، LPS این باکتری‌ها بجای اتصال به TLR4، تنها از طریق TLR2 باعث فعال شدن ماکروفاژهای انسانی می‌شود. این امر به دلیل ساختار نامعمول لیپید A متیله شده‌ی موجود در LPS می‌باشد(۳۸). در انسان و بسیاری از حیوانات TLR2 نقش مهمی در کنترل عفونت لپتوسپیرایی ایفا می‌کند اما تحقیقات بر روی حیواناتی نظیر موش ثابت کرده است که TLR4 نیز می‌تواند در ایجاد عفونت مزمن نقش داشته باشد. بعلاوه مشخص شده که لیپید A آگونیست TLR4 میمون است. این موارد نشان می‌دهند که تشخیص و افتراق در شناسایی لیپید A با توجه به گونه های مختلف حیوانات می‌تواند در تعیین استعداد ابتلا و پیشرفت بیماری موثر باشد(۳۹). ساختار نامعمول لیپید A راهکار باکتری است که از این طریق سلول‌های ایمنی را کمتر تحریک و فعال نماید و ایجاد بیماری کند. فعال شدن TLR2 سبب فعال شدن مسیر انتقال پیام NF-κB و تحریک تولید کموکاین ها و سایتوکاین های التهابی می‌شود.

ایمنی اکتسابی علیه لپتوسپیرا عمدتاً از نوع ایمنی هومورال است(۴۰) که منجر به تولید آنتی بادی‌هایی می‌گردد که باعث تشدید فاگوسیتوز باکتری توسط نوتروفیل ها و ماکروفاژها می‌شود(۴۱). ماکروفاژها قادر هستند لپتوسپیراهای بیماری زا و ساپروفیت را که توسط IgG اپسونیزه شده‌اند، فاگوسیتوز نموده و آن‌ها را نابود سازند. آنتی بادی‌ها می‌توانند پاتوژن ها را اپسونیزه کنند و باعث افزایش روند فاگوسیتوز در نوتروفیل ها و ماکروفاژهای فعال شوند. بعلاوه آنتی بادی‌ها قادر به آگلوتینه کردن لپتوسپیراها و فعال کردن سیستم کمپلمان نیز هستند. با توجه به اینکه LPS خاصیت آندوتوکسینی ضعیفی دارد، TLR2 در ایجاد ایمنی علیه لپتوسپیرا موفق عمل نمی‌کند و عمدتاً آنتی بادی‌های تولید شده علیه LPS در ایجاد ایمنی نقش مهمی ایفا می‌کنند. بنابراین ایمنی هومورال بالاترین سطح حفاظت علیه این بیماری را در انسان‌ها و حیوانات ایجاد می‌کند(۱۴). توانایی لپتوسپیرا در گریز از فاگوسیتوز یک فاکتور ویرولانس مهم بشمار می‌آید که منجر به تهاجم و مقاومت در برابر فعالیت کمپلمان می‌گردد(۴۲).

ماکروفاژها نیز با تولید TNF-α نقش مهمی را در پاسخ ایمنی میزبان علیه لپتوسپیروز ایفا می‌کنند. در انسان‌ها در طی ایمنی ذاتی، پپتیدهای ضد میکروبی (Antimicrobial Peptide: AMP) مانند کاتلیسیدین و دفنسین توسط نوتروفیل ها و سلول‌های اپیتلیال تولید می‌شوند. این کاتیون‌های ضدمیکروبی با رسپتورهای سطح سلول واکنش داده، موجب افزایش نفوذپذیری غشای باکتری شده و اندوتوکسین را خنثی می‌کنند(۴۳).



تصویر شماره ۱: باکتری‌های لپتوسپیرا از طریق پروتئین های سطحی خود به سلول‌های میزبان متصل شده و وارد سلول می‌شوند. بعد از ورود، باکتری‌ها لیز شده و آندوتکسین آن‌ها آزاد می‌شود. LPS یکی از مهم‌ترین آندوتوکسین هاست که با اتصال به گیرنده TLR2، مسیر انتقال پیام NF-κB و MAPK را فعال کرده و سبب رونویسی ژن‌های مربوط به التهاب می‌گردد. علاوه بر این، اپسونیزه شدن این باکتری‌ها توسط آنتی-بادی‌ها سبب تسهیل فاگوسیتوز توسط ماکروفاژها می‌شود. ماکروفاژها بعد از انجام فاگوسیتوز با تولید TNF-α، IL-6 و IL-8 به پیشبرد فرایند التهاب کمک می‌کنند. سلول‌های T به خصوص سلول‌های T گاما دلتا نیز با تولید IFN-γ نقش مهمی در التهاب دارند.

دفنسین های انسانی نظیر پپتیدهای نوتروفیل انسانی ۱،۲و ۳ (Human Neutrophil Peptide: HNP1 ،HNP2 HNP3) در کشتن لپتوسپیرا اینتروگانس موفق عمل می‌کنند(۴۴).

بعد از فاگوسیتوز، اجزای لپتوسپیرا تولید سایتوکاین های نوع Th1 و تکثیر سلول‌های T را القا می‌کند. در طی فاز حاد عفونت، لنفوسیت‌های T نوع آلفا بتا و همچنین نوع گاما دلتا، به خصوص لنفوسیت‌های نوع گاما دلتای تولیدکننده‌ی اینترفرون گاما(IFNγ) افزایش می‌یابد(۴۵). TNF-α از جمله سایتوکاین های مربوط به فازهای اولیه بیماری است و به تدریج با پیشرفت بیماری سطح آن کاهش‌یافته و غیرقابل تشخیص می‌گردد. در عوض میزان IL-6 و IL-8 در بیماران مبتلا افزایش می‌یابد(۴۶). پپتیدهای لپتوسپیرایی می‌توانند با مولکول‌های MHC-I کمپلکس تشکیل داده و به دنبال آن به لنفوسیت‌های CD8+ T عرضه شوند(۴۶)، در شکل فوق پاسخ سلول‌های ایمنی علیه باکتری لپتوسپیرا به صورت شماتیک نشان داده شده است. در شکل یک باکتری‌های لپتوسپیرا از طریق پروتئین های سطحی خود به سلول‌های میزبان متصل شده و وارد سلول می‌شوند.

دوره و تظاهرات بالینی بیماری

لپتوسپیروز یک بیماری تب دار حاد است که طیف وسیعی از علائم را در بر می‌گیرد، این علائم می‌تواند از فرم ملایم یعنی بیماری مشابه آنفولانزا تا علائم شدیدتر بیماری مثل زردی، خونریزی، نارسایی کلیوی و مرگ باشد. البته بیشتر بیماران علائم متوسطی را از خود نشان می‌دهند(۴۸). عمدتاً این بیماری در دو فاز سپتی سمی و

ایمنی دیده می‌شود. در آغاز بیماری، در طی فاز حاد یا سپتی سمی که عمدتاً یک هفته طول می‌کشد (بین ۳ الی ۷ روز)، باکتری وارد خون می‌شود(باکتریمی)، تب ناگهانی در همه یا بیشتر موارد رخ می‌دهد(۴۹). علاوه بر تب ناگهانی، درد عضلانی، سر درد، پرخونی ملتحمه، درد شکم و تهوع از دیگر علائم این بیماری است. در این فاز باکتری‌ها در خون و مایع مغزی نخاعی یافت می‌شوند. بعد از ۵ تا ۷ روز علائم کاهش یافته و ناپدید می‌شود. در بعضی موارد بیماران حتی بدون درمان‌های پزشکی، بهبود می‌یابند و یا بیماری آن‌ها به فرم تحت بالینی پس رفت می‌کند، اما معمولاً ۱ تا ۳ روز بعد از بهبودی، فاز دوم بیماری آغاز می‌شود. در مرحله‌ی دوم یا فاز ایمنی(۳۰ روز) علائمی از جمله مننژیت، یووئیت، جوش و تب بروز می‌یابد. این فاز با دفع باکتری از طریق ادرار و ظاهر شدن آنتی بادی‌های IgM در سرم بیمار مشخص می‌گردد. در این فاز لپتوسپیراها در توبول های کلیه ساکن شده و از طریق ادرار خارج می‌گردند (۵۰). بیماری در این فاز به دو فرم ایکتریک و غیر ایکتریک طبقه‌بندی می‌شود. فرم غیرایکتریک ملایم‌تر بوده و تقریباً در ۹۰ درصد از موارد قابل تشـخیص می‌باشد. علائم مننژیت که با سردرد و سفتی گردن همراه است، در این فاز دیده می‌شود. در بعضی از بیماران یووئیت می‌تواند در چند هفته تا چند سال بعد از آغاز بیماری ایجاد شود(۵۱). تشخیص لپتوسپیروز به دلیل داشتن علائم غیر اختصاصی آن دشوار است(۵۲). علائم گوارشی این بیماری شامل: بی‌اشتهایی، تهوع، استفراغ، تشنگی و درد شکم است که کمتر در بیماران بروز می‌یابد. علائمی همچون؛ لنفادنوپاتی، هپاتومگالی، اسپلنومگالی و راش کمتر در این بیماران دیده می‌شود(۵۳).

فرم ایکتریک که به سندروم ویل(Syndrome Weil's) معروف است، شدیدترین فرم بیماری است که بعد از فرم حاد اتفاق می‌افتد، در نتیجه درگیری شدید ریوی و کلیوی که به دلیل حضور باکتری لپتوسپیرا در این اندام‌هاست، ایجاد می‌گردد. سندروم ویل معمولاً در ارتباط با اختلال در عملکرد کبد، نارسایی کلیوی، خونریزی و نارسایی ارگان‌های متعدد (Multiple Organ Failure: MOF) است. درگیری ارگان‌های مختلف یکی از عوامل مرگ و میر بالا در این بیماری است. سطح بالای بیلی روبین به همراه افزایش نسبی در میزان ترانس آمینازها در این فرم قابل مشاهده است. تعداد پلاکت‌ها کاهش یافته و سطح سرمی کراتینین فسفوکیناز به دلیل درگیری ماهیچه‌ها افزایش می‌یابد(۵۴).

تشخیص

تشخیص میکروسکوپی: باکتری‌های لپتوسپیرا از طریق مشاهده مستقیم میکروسکوپی نمونه‌های بالینی قابل تشخیص هستند. میکروسکوپ زمینه تاریک با بررسی مایعات بدن مانند خون، ادرار، مایع مغزی- نخاعی و مایع دیالیز امکان تشخیص زودهنگام را فراهم می‌کند. حساسیت این روش پایین است، برای مشاهده یک باکتری در زیر شان میکروسکوپ می‌بایست تقریباً ۱۰۰۰۰ باکتری در هر میلی‌لیتر نمونه وجود داشته باشد. نتایج این روش به شدت تحت تأثیر زمان نمونه‌گیری و مهارت کارشناس آزمایشگاه قرار دارد. اگر نمونه مورد آزمایش خون باشد تنها تا چند روز بعد از آغاز بیماری باکتری‌ها قابل‌تشخیص می‌باشند. بررسی مستقیم نمونه‌های خون توسط میکروسکوپ زمینه تاریک می‌تواند سبب اشتباه در تشخیص باکتری گردد، حساسیت این روش ۴۰/۲ درصد و اختصاصیت آن ۶۱/۵ درصد است(۵۵)؛ لذا این روش به تنهایی قابل‌اطمینان نیست و باید به همراه سایر روش‌ها انجام گیرد. البته بررسی مستقیم می‌تواند از طریق رنگ‌آمیزی ایمنوفلورسانس، رنگ‌آمیزی ایمنو- پراکسیداز و رنگ آمیزی نقره نیز انجام گردد که این روش‌ها به دلیل عدم در دسترس بودن کیت‌های تجاری و حساسیت نسبتاً پایین آن‌ها، به طور وسیعی مورد استفاده قرار

نمی‌گیرند(۵۶). حضور این باکتری در بافت نیز به کمک رنگ‌آمیزی هیستوپاتولوژی و روش‌های ایمونوهیستوشیمی قابل مشاهده است(۵۷).

تشخیص آنتی ژن: تشخیص آنتی ژن لپتوسپیرا در نمونه‌های بالینی در سطح وسیعی انجام نمی‌گیرد. اخیراً تشخیص آنتی ژن در ادرار از طریق dot blot ELISA یا dot-ELISA با استفاده از آنتی بادی مونوکلونال علیه جزء نامشخص ۳۵ کیلو دالتونی لپتوسپیرای بیماری زا انجام شده است (۵۸). این آزمون آنتی ژن را در ادرار افرادی که تست سرولوژیکی IgM سرم آن‌ها منفی بوده، تشخیص می‌دهد.

کشت: لپتوسپیرا از نمونه‌های بالینی همچون خون، مایع مغزی-نخاعی، ادرار و بافت قابل جداسازی می‌باشد. کشت خون باید بلافاصله بعد از آغاز بیماری، در طی فاز لپتوسپیرمی و قبل از استفاده از آنتی‌بیوتیک انجام شود. ادرار نیز یک نمونه مناسب برای جداسازی لپتوسپیرا می‌باشد که باید در طی فاز لپتوسپیروری یعنی تقریباً یک هفته بعد از بیماری انجام شود. نمونه خون و ادرار در محیط کشت‌های مخصوص تلقیح شده و در دمای $30\ ^{o}C$ انکوبه می‌گردند. این کشت‌ها باید به طور منظم توسط میکروسکوپ زمینه تاریک مورد بررسی قرار بگیرند. در کشت اولیه رشد باکتری‌ها کند است و زمان تکثیر باکتری حدود ۲۰ ساعت بوده و کشت‌ها نیز باید بیش از ۱۳ هفته نگهداری شوند. همین عوامل سبب شده که جداسازی با این روش برای تشخیص زودهنگام بیماری مناسب نباشد. علاوه بر سرعت پایین رشد، نیاز به محیط کشت‌های خاص، حساسیت کم این روش سبب شده که این تست به صورت روتین در آزمایشگاه‌ها انجام نگیرد؛ اما در هر صورت جداسازی و تعیین خصوصیات این باکتری برای مطالعات اپیدمیولوژیک ضروری است(۵۹).

تشخیص آنتی بادی: بیشتر موارد مبتلا به لپتوسپیروز به کمک تست‌های سرولوژیک مشخص می‌شوند. آنتی بادی ۵ تا ۷ روز بعد از بروز علائم در خون بیمار تشخیص داده می‌شود. بالاترین تیتر آنتی بادی از هفته‌ی دوم به بعد آغاز می‌شود و ابتدا در خون و سپس در مایع مغزی- نخاعی قابل تشخیص می‌باشد. آزمایش میکروآگلوتیناسیون (MAT) یک آزمون سرولوژی استاندارد طلایی برای تشخیص لپتوسپیروز محسوب می‌شود که آنتی بادی‌های آگلوتینان را در سرم بیمار شناسایی می‌کند. جهت انجام این تست، سرم بیمار با سوسپانسیون باکتری‌های زنده سروواراهای مختلف لپتوسپیرا مجاور می‌شود و بالاترین تیتری از سرم که باعث آگلوتیناسیون ۵۰ درصد باکتری‌ها شده است در زیر میکروسکوپ زمینه تاریک تعیین شود. به علت دشوار بودن تشخیص آگلوتیناسیون نیمی از لپتوسپیراها، عملاً تیتر نهایی را نیز می‌توان با ارزیابی حضور ۵۰ درصد از لپتوسپیراهای آزاد غیر آگلوتینه در برابر سوسپانسیون کنترل تعیین نمود. در آزمایشگاه های مختلف از تیترهای پایانی مختلف(از رقت ۱ به ۱۰۰ تا رقت ۱ به ۸۰۰) جهت تشخیص استفاده می‌شود که این امر می‌تواند در تشخیص و تعیین بیماری تأثیر داشته باشد. این تست محدودیت‌های متعددی دارد که استفاده‌ی گسترده از آن را محدود کرده است: ضرورت نگهداری از طیف وسیعی از سروواراهای لپتوسپیرا زنده به منظور فراهم سازی منبع آنتی ژنی زنده، وجود آنتی سرم های استاندارد، میکروسکوپ زمینه تاریک، مهارت و تخصص تکنسین آزمایشگاه، داشتن نمونه های سرم زوج که سبب تأخیر در تشخیص می‌شود، نتایج منفی کاذب که عمدتاً ناشی از عدم وجود سروتایپی یا سرتیپ‌هایی از لپتوسپیرا در پانل کشت‌های باکتری‌های مورد استفاده در آزمایش می‌باشد. علاوه بر این تفسیر این تست نیز به دلیل میزان بالای واکنش‌های متقاطع که بین سروگروپ های مختلف مخصوصاً در فاز حاد اتفاق می‌افتد، دشوار است(۶۰) و به دلیل استفاده از آنتی ژن‌های زنده، خطر تهدید سلامتی برای تکنسین آزمایشگاه وجود دارد. علاوه بر این، روش MAT قادر به تفکیک آنتی بادی

آگلوتینان IgM و IgG از هم نیست. پانل آنتی ژنی باید سروارهای نماینده تمام زیرگروه‌ها و سروارهای معمول را در بر بگیرد. در این مورد WHO ۱۹ سروار از ۱۶ زیرگروه را پیشنهاد کرده است(۵۹) این تست سرولوژیک به نمونه های سرم زوج (سرم مربوط به فاز حاد و دوره‌ی نقاهت بیماری) جهت قطعیت تشخیص نیاز دارد زیرا حساسیت آن در فاز حاد بیماری کم است. بنابراین تست‌های غربالگری سریع برای تشخیص آنتی بادی در عفونت حاد در نظر گرفته شده است که شامل تست‌های تجاری همانند الیزا، تست ثبوت کمپلمان(CFT)، Dipstick یا الیزای سریع، Lateral Flow، سنجش غیرمستقیم هماگلوتیناسیون و تست لاتکس آگلوتیناسیون است(۶۱).

به دلیل پیچیدگی تست MAT، تست‌های غربالگری سریع برای آنتی بادی‌های لپتوسپیرایی در طی عفونت حاد گسترش یافته‌اند. از جمله تست CF یا ثبوت کمپلمان که در سطح وسیعی استفاده می‌شد اما روش استاندارد شده‌ای نبود. این روش برای تشخیص در دامپزشکی انجام می‌شد که با آن می‌توان تفاوت‌های بین گونه‌های مختلف را نشان داد(۶۲). به همین دلیل تست‌های CF با روش‌های الیزا جایگزین شد. با توجه به اینکه در انتهای هفته اول بیماری، تنها آنتی بادی IgM تولید می‌شوند، لذا تشخیص بیماری نیز بر پایه شناسایی این آنتی بادی خواهد بود(۶۳). تشخیص IgM زمانی که اولین نمونه در اوایل فاز حاد بیماری گرفته می‌شود نسبت به MAT حساس‌تر است. روش الیزا به همراه تغییراتی که در آن اعمال شده است در موارد مختلفی کاربرد دارد، dot-ELISA اختصاصی IgM که در آن از فیلترهای نیتروسلولزی استفاده می‌شود و می‌توان از حجم کمتری از واکنش‌دهنده‌ها استفاده کرد.

اصلاحات بیشتر در الیزا سبب شده که این روش قادر به شناسایی IgM و IgA باشد که در این روش بجای نیتروسلولز از پلی‌استر رزین- فابریک استفاده شده است. گرچه این آزمایش یک روش ساده، سریع، ارزان و قابل استفاده در آزمایشگاه های دارای امکانات محدود می‌باشد ولی به دلیل بروز موارد مثبت کاذب، می‌بایست نتایج این روش با آزمایش MAT تأیید گردد. فرم دیگر الیزا بنام dot- ELISA dipstick نیز برای IgM وجود دارد که با کیت تجاری انجام می‌شود و حساسیتی برابر با روش معمول IgM-ELISA دارد(۵۶). الیزا روش حساس و مناسب برای غربالگری است. به عنوان مثال آزمون الیزا مبتنی بر آنتی ژن نوترکیب LipL32 روشی حساس، اختصاصی و دقیق می‌باشد که در سطح وسیعی با نمونه سرم بیماران قابل انجام است و می‌توان به کمک آن آنتی بادی‌های ضد لپتوسپیرا را تشخیص داد(۶۴). روش‌های تشخیصی سرولوژیکی، از معمول‌ترین روش‌های تشخیص آزمایشگاهی جهت تشخیص این بیماری می‌باشند اما به علت تأخیر در بروز آنتی بادی‌های اختصاصی لپتوسپیروز در خون، نمی‌توان از آن‌ها جهت تشخیص سریع در هفته‌ی اول و در طی فاز حاد بیماری استفاده نمود که جهت رفع این مشکل از روش‌های تشخیص مولکولی می‌توان بهره برد.

تشخیص DNA : تشخیص DNA لپتوسپیرا به کمک PCR روش مناسبی برای تشخیص زودهنگام است که در دو دهه اخیر مورد توجه قرار گرفته است. حساسیت این روش در صورت استفاده از نمونه‌های خون و فرم شدید بیماری بین ۲۸ تا ۹۶ درصد است(۶۵) و اختصاصیت آن در مقایسه با روش MAT بالای ۹۰ درصد می‌باشد(۶۶).

ژن‌های متعددی همانند secY، ژن فلاژلین، rrs، Fla B، rrl و جایگاه ژنومیکی LA3521 در سروار لپتوسپیرا اینتروگانس به عنوان اهداف تشخیص به کمک PCR می‌باشند(۶۷). DNA لپتوسپیرا از خون، ادرار، مایع مغزی-نخاعی، زلالیه و بافت قابل تکثیر است. اخیراً روش real-time PCR به عنوان روشی سریع و حساس در تشخیص DNA لپتوسپیرا و هم چنین تکنیکی برای کاهش انتقال آلودگی معرفی شده است. این روش قادر به شناسایی ژن‌های rrs، ligA، ligB، gyrB،

جدول شماره ۱: رژیم‌های درمانی لپتوسپیروز بر اساس شدت بیماری(۱۳و ۵۶)

شدت بیماری	رژیم دارویی		
	ترکیب دارویی	دوز مصرف	نحوه مصرف
لپتوسپیروز خفیف	دوکسی سیکلین	۱۰۰ میلی گرم	به صورت خوراکی دو بار در روز
	آموکسی سیلین	۷۵۰- ۵۰۰ میلی گرم	به صورت خوراکی چهار بار در روز
	آمپی‌سیلین	۵۰۰ میلی گرم	به صورت خوراکی چهار بار در روز
لپتوسپیروز متوسط/ شدید	پنی سیلین G	۱/۵ میلیون واحد	به صورت وریدی یا عضلانی چهار بار در روز
	سفتریاکسون	۱ گرم	به صورت وریدی یک بار در روز
	سفوتاکسیم	۱ گرم	به صورت وریدی چهار بار در روز
	آمپی‌سیلین	۱- ۰/۵ گرم	به صورت وریدی چهار بار در روز
کموپروفیلاکسی	دوکسی سیکلین	۲۰۰ میلی گرم	به صورت خوراکی یک‌بار در هفته
	آزیترومایسین	۲۵۰ میلی گرم	به صورت خوراکی یک‌بار یا دو بار در هفته

جایگاه ژنومی LA0322 در سرووار لپتوسپیرا اینتروگانس، lipL32 و secY با استفاده از پروب های Taqman یا رنگ فلورسانس سایبرگرین است. هر دو روش PCR معمولی و real-time PCR برای تشخیص زودهنگام در زمانی که هنوز آنتی بادی تولید نشده‌اند، بکار می‌رود(۶۸). اخیراً روش تکثیر هم دمای LAMP به منظور شناسایی لپتوسپیراهای بیماری زا شناسایی شده است. برخلاف PCR این روش توالی DNA هدف را در شرایط هم دما با محیط تقریباً به مدت یک ساعت با اختصاصیت و بازده بالا تکثیر می‌کند و نیازی به استفاده از دستگاه ترموسیکلر برای ایجاد گرادیانهای دمایی ندارد. نتایج روش LAMP با چشم غیر مسلح قابل سنجش است(۶۹). این روش برای شناسایی DNA لپتوسپیرا از کلیه موش انجام شده است اما حساسیت و اختصاصیت آن برای نمونه‌های بالینی انسان ارزیابی نشده است(۷۰).

درمان و پیشگیری

برای درمان فرم ملایم این بیماری از آنتی‌بیوتیک داکسی سیکلین، آمپی‌سیلین یا آموکسی سیلین استفاده می‌گردد. فرم شدید این بیماری نیز با آنتی‌بیوتیک های پنی سیلین G، سفتیریاکسون(۷۱) و آمپی‌سیلین قابل‌درمان می‌باشد(۱۳) (جدول شماره ۱). طول مدت درمـان با آنتی بوتیـک‌ها یک هفته می‌باشد. یکـی از مهم‌ترین راه‌های پیشگیری واکسیناسیون حیوانات است. علاوه بر آن کاهش فعالیت‌های خطرساز همچون شنا کردن، آشامیدن و کار کردن در آب‌های آلوده می‌تواند در کاهش انتقال آلودگی تأثیر بسزایی داشته باشد. هم چنین استفاده از پوشش‌های مناسب مانند چکمه و دستکش برای مشاغلی که در خطر هستند و یا در صورت وجود خراشیدگی و زخم در دست و پا با انجام پانسمان و سپس ورود در مزارع می‌تواند راه‌های ورود پاتوژن به بدن را کاهش دهد(۷۲). روش دیگر پیشگیری استفاده از آنتی بیوتیک‌های داکسی سیکلین یا آزیترومایسین در ایام کار کشاورزان در مزارع به عنوان کموپروفیلاکسی است

نتیجه گیری

عفونت لپتوسپیرایی سبب درگیری ارگان‌های مختلف بدن شده و در موارد پیشرفته مرگ را به دنبال خواهد داشت. این بیماری در نواحی شمال ایران به دلیل شرایط خاص آب و هوایی و وفور مشاغل در خطر به صورت آندمیک وجود دارد. از طرفی طیف وسیع علائم غیر اختصاصی و مشابه با سایر بیماری‌ها، تشخیص آن را با دشواری مواجه کرده است. مکانیسمهای بیماری‌زایی آن کاملاً روشن نشده است و روش‌های تایید تشخیص سرولوژی نظیر MAT با محدودیت هایی همراه است و تنها در آزمایشگاه های مرجع انجام

می‌پذیرد. روش‌های مولکولی نیز گرچه نقش بسزایی در تشخیص بیماری در مرحله آغازین عفونت دارند ولی به صورت روتین در تمامی مراکز بهداشتی انجام نمی‌شود. با توجه به مشکلات ناشی از عدم تشخیص به هنگام بیماری نظیر ابتلا به سندرم ویل، عوارض بیماری، عدم وجود واکسن موثر و هزینه های مختلف ناشی از ابتلا به لپتوسپیروز و هم چنین ناکافی بودن سطح آگاهی پزشکان و پرسنل بهداشتی نسبت به این بیماری، به نظر می‌رسد بررسی این بیماری به ویژه از لحاظ نحوه بیماری‌زایی و راه‌های تشخیص آن، می‌تواند نقش موثری در پیشگیری، کنترل و درمان آن داشته باشد.

References

1. Levett PN, Haake DA. Leptospira species (Leptospirosis). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practices of infectious diseases. New York: Elsevier. 2010; 3059–65.
2. Izurieta R, Galwanker S and Clem A.Leptospirosis: themysterious mimic. J emerg trauma shock. 2008; 1(1):21-33.
3. Johnson RC, Faine S. Leptospira. In: Keieg NR, Nolt JG. Bergey's manual of systematic bacteriology. 2nd. Baltimore USA: Williams &Wilkins. 1984; pp: 62-7.
4. Seguro AC, Andrrade L. Pathophysiology of leptospirosis. SHOCK. 2013; 39(7):17-23.
5. Levett PN. Leptospira and leptonema. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, et al, eds. Manual of clinical microbiology, 8th eds. Washington DC: ASM Press, 2003: 929–36.
6. Khairani-Bejo S, Bahaman AR, Zamri-Saad and Mutalib AR. The survival of Leptospira interogaans serovars Hardjo in the Malasian environment. J Anim Vet Adv. 2004; 3(3): 123-9.
7. Ko AI, Goarant C, Picardeau M: Leptospira: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. Nat Rev Microbiol. 2009; 7:736-47.
8. Babamahmoodi F, Motamed N, Mahdavi M, Nikkhah F and Ghavi Bonye K. Epidemiology of leptospirosis in rural area of Ghaemshahr, Mazandaran, during September-October 2004. J Mazandaran Uni Med Sci. 2006; 16 (53): 51-6 (Persian).
9. Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. Leptospira and Leptospirosis.2nd ed. MediSci. Melbourne, Australia. 1999.
10. Rafiei A, Hedayati Zadeh-Omran A, Babamahmoodi F, Alizadeh Navaei R, Valadan R. Review of Leptospirosis in Iran. J Mazand Univ Med Sci. 2012; 22(94): 113-24 (Persian).
11. Babamahmoodi F, Salmani Mojaveri M, Babamahmoodi A. Seroepidemiology of leptospirosis in workers of high risk occupation in Mazandaran province – Iran 2007-2008. J Mazand Univ Med Sci. 2009; 19(73): 11-5 (Persian).
12. Davoodi A, Babamahmoodi F, Khoademloo M, Alikhani A, Najafi N. Awareness of General Practitioners in Mzandaran Province on Leptospirosis and Related Factors. J Mazand Univ Med Sci. 2012; 22(93): 98-102 (Persian).
13. Longo D, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Jameson J, Loscalzo J (Eds). Leptospirosis in: Harrison's principles of internal medicine (18th edition). McGraw-Hill Medical Pub Division. 2011.
14. Fraga TR, Barbosa AS, Isaac L. "Leptospirosis: aspects of innate immunity, immunopathogenesis and immune evasion from the complement system," Scandinavian J Immunol. 2011; 73(5): 408–19.
15. Schwarz-Linek U, Höök M, Potts JR. The molecular basis of fibronectin-mediated bacterial adherence to host cells. Mol Microbiol 2004; 52(3):631–41.
16. Matsunaga J, Barocchi MA, Croda C, Young TA, Sanchez Y, Siqueira I, et al. Pathogenic Leptospira species express surface-exposed proteins belonging to the bacterial immunoglobulin superfamily. Mol Microbiol. 2003; 49: 929–49.
17. Choy HA, Kelley MM, Chen TL, Møller AK, Matsunaga J, Haake A. Physiological osmotic induction of Leptospira interrogans adhesion: LigA and LigB bind extracellular matrix proteins and fibrinogen. Infect Immun. 2007; 75: 2441-50.
18. Lin YP, Lee D, McDonoug SP, Nicholson LK, Sharma Y and Chan YF. Repeated domains of Leptospira immunoglobulin-

like proteins interact with elastin and tropoelastin. J Biol Chem. 2009; 284:19380–91.
19. Croda J, Figueira C, Wunder EA Jr, Santos CS, Reis MG, Ko AI, et al. Targeted mutagenesis in pathogenic Leptospira species: Disruption of the ligB gene does not affect virulence in animal models of leptospirosis. Infect Immun. 2008; 76(12): 5826– 33.
20. Haake DA, Chao G, Zuerner RL, Barnett JK, Barnett D, Mazel M, et al. The leptospiral major outer membrane protein LipL32 is a lipoprotein expressed during mammalian infection. Infect Immun. 2000; 68: 2276–85.
21. Hoke DE, Egan S, Cullen PA and Adler B. LipL32 is an extracellular matrix-interacting protein of Leptospira spp. and Pseudoalteromonas tunicata. Infect Immun. 2008; 76: 2063–9.
22. Tung J, Yang C, Chou S, Lin C and Sun Y. Calcium binds to LipL32, a lipoprotein from pathogenic Leptospira, and modulates fibronectin binding. J Biol Chem. 2010; 285: 3245–52.
23. Ristow P, Bourhy P, da Cruz McBride FW, Figueira CP, Huerre M, Ave P, et al. The OmpA-like protein Loa22 is essential for leptospiral virulence. PLoS Pathog. 2007; 3(7): e97.
24. Koizumi N, Watanabe H. Molecular cloning and characterization of a novel leptospiral lipoprotein with OmpA domain. FEMS Microbiol Lett. 2003; 226: 215– 9.
25. Nally JE, Whitelegge JP, Bassilian S, Blanco DR, Lovett M. Characterization of the outer membrane proteome of Leptospira interrogans expressed during acute lethal infection. Infect Immun. 2007; 75: 766-73.
26. Haake DA, Champion CI, Martinich C, Shang ES, Blanco DR, Miller JN, Lovett MA. Molecular cloning and sequence analysis of the gene encoding OmpL1, a transmembrane outer membrane protein of pathogenic Leptospira spp. J. Bacteriol. 1993; 175: 4225-34.
27. Barbosa AS, abreu PA, Neves FO, Atzingen MV, Watanabe MM, Vieira ML, Morais ZM, Vasconcellos SA, Nascimento AL. A newly identified leptospira adhesin mediates attachment to laminin. Infect Immun. 2006; 11: 6356-64.
28. Breiner DD, Fahey M, Salvador R, Novakova J, Coburn J. Leptospira interrogans binds to human cell surface receptors including proteoglycans. Infect Immun. 2009; 77(12): 5528– 36.
29. Ito T, Yanagawa R. "Leptospiral attachment to extracellular matrix of mouse fibroblast (L929) cells," Vet Microbiol. 1987; 15: 89– 96.
30. Ren SX, Fu G, Jiang XG, Zeng R, Miao YG, Xu H, et al. Unique physiological and pathogenic features of Leptospira interrogans revealed by whole-genome sequencing. Nature 2003; 422: 888–93.
31. Lux R, Moter A, Shi W. Chemotaxis in pathogenic spirochetes: directed movement toward targeting tissues? J Mol Microbiol Biotechnol. 2000; 2: 355–64.
32. Que-Gewirth NLS, Ribeiro AA, Kalb SR, Cotter RJ, Bulach DM, Adler B, et al. A methylated phosphate group and four amide-linked acyl chains in Leptospira interrogans lipid A: the membrane anchor of an unusual lipopolysaccharide that activates TLR2. J Bio Chem. 2004; 279: 25420-9.
33. Vinh T, Adler B, Faine S. Glycolipoprotein cytotoxin from Leptospira interrogans serovar copenhageni. J General Microbiol. 1986; 132: 111-23.
34. Johnson RC, Rogers P. Metabolism of leptospirae. I. Utilization of amino acids and purine, and pyrimidine bases," Arch Bioch Bioph. 1964; 107: 459-70.
35. Johnson RC, Walby JK. Cultivation of leptospires: fatty acid requirements. Appl Microbiol. 1972; 23: 1027-8.
36. Dorigatti F, Brunialti MKC, Romero EC, Kallas EG, Salomão R. Leptospira interrogans activation of peripheral blood monocyte glycolipoprotein demonstrated in whole blood by the release of IL-6. Brazilian J Med Bio Res. 2005; 38: 909-4.
37. Diament D, Brunialti MKC, Romero EC, Kallas EG, Salomao R. Peripheral blood mononuclear cell activation induced by Leptospira interrogans glycolipoprotein. Infect Immun. 2002; 70: 1677–83.
38. Werts C, Tapping RI, Mathison JC, Chuang TH, Kravchenko V, Saint Girons I, et al. Leptospiral lipopolysaccharide activates cells through a TLR2-dependent mechanism. Nat Immunol. 2001; 2: 346–52.
39. Nahori MA, Fournie-Amazouz E, Que-Gewirth NS, Balloy V, Chignard M, Raetz CR, Saint Girons I, Werts C. Differential TLR recognition of leptospiral lipid A and lipopolysaccharide in murine and human cells. J Immunol. 2005; 175:6022–31.
40. Perolat P, Chappel RJ, Adler B, Baranton G, Bulach DM, Billinghurst ML, et al. Leptospira fainei sp. Nov, isolated from pigs in Australia. Int J Syst Bacteriol. 1998; 48:851– 8.
41. Mitchison M, Bulach DM, Vinh T, Rajakumar K, Faine S, Adler B.

Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. Lancet Infect. Dis. 2003; 3: 757–771.
54. Duta TK and Christopher M. Leptospirosis-An overview. J Assoc Physic Ind. 2005; 53:545-51.
55. Vijayachari P, Sugunan AP, Umapathi T, Sehgal SC. Evaluation of darkground microscopy as a rapid diagnostic procedure in Leptospirosis. Indian J Med Res. 2001; 114: 54- 8.
56. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas and Bennett's Principle and Practice of Infectious Diseases (6th edition). Philadelphia, USA: Elsevier Churchill Livingstone, 2005.
57. Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev. 2001; 14: 296–326.
58. Saengjaruk P, Chaicumpa W, Watt G, Bunyaraksyotin G, Wuthiekanun V, Tapchaisri P, et al. Diagnosis of human leptospirosis by monoclonal antibody-based antigen detection in urine. J Clin Microbiol. 2002; 40: 480–9.
59. World Health Organization. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance, and control. World Health Organization, Geneva, Switzerland.2003.
60. Ahmed SN, Shah S, Ahmed FMH. Laboratory diagnosis of leptospirosis. J Postgrad Med. 2005; 51: 195- 200.
61. Smits HL, Eapen CK, Sugathan S, Kuriakose M, Gasem MH, Yersin C, et al. Lateral-flow assay for rapid serodiagnosis of human leptospirosis. Clin Diagn Lab Immunol. 2001; 8: 166–9.
62. Richaud C, Margarita D, Baranton G, Saint Girons I. Cloning of genes required for amino acid biosynthesis from Leptospira interrogans serovar icterohaemorrhagiae. J Gen Microbiol. 1990; 136: 651–6.
63. Adler B, Murphy AM, Locarnini SA, Faine S. Detection of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in human serum by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol. 1980; 11: 452–7.
64. Dey S, Mohan CM, Ramadass P, Nachimuthu K. Diagnosis of leptospirosis by recombinant antigen based single serum dilution ELISA. Indian J Med Res. 2008; 128: 172-7.
65. Villumsen S, Pedersen R, Krogfelt KA, Jensen JS. Expanding the Diagnostic Use of PCR in Leptospirosis: Improved Method for DNA Extraction from Blood Cultures. PLoS ONE. 2010; 5(8): e12095.
66. Vijayachari P, Sehgal SC. Recent advances in the laboratory diagnosis of leptospirosis

Identification and caracterization of the dTDP-Rhamnose biosynthesis and transfer genes of the lipopolysaccharide-related rfb locus in Leptospira interrogans serovar copenhageni. J Bacteriol. 1997; 179:1262-7.
42. Johnson RC, Harris VG. Antileptospiral activity of serum II. Leptospiral virulence fdactor. J Bacteriol. 1967; 93: 513-9.
43. Guanı´-Guerra E, Santos-Mendoza T, Lugo-Reyes SO, Tera´n LM. Antimicrobial peptides: general overview and clinical implications in human health and disease. Clin Immunol. 2010; 135:1–11.
44. Wu Q, Xu L, Wang X, Li S, Wang B. Investigation of microbicidal activity of neutrophil defensins against leptospires. Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao. 1992; 23: 126–9.(Chinese)
45. Klimpel GR, Matthias MA, Vinetz JM. Leptospira interrogans activation of human peripheral blood mononuclear cells: preferential expansion of TCR gamma delta+ T cells vs TCR alpha beta+ T cells. J Immunol. 2003; 171:1447–55.
46. Wagenaar JF, Gasem MH, Goris MG, Leeflang M, Hartskeerl RA, van der Poll T, et al. Soluble ST2 levels are associated with bleeding in patients with severe Leptospirosis. PLoS Negl Trop Dis. 2009; 3:e453.
47. Guo YJ, Wang KY, Sun SH. Identification of an HLA-A*0201- restricted CD8(+) T-cell epitope encoded within Leptospiral immunoglobulin-like protein A. Microbes Infect. 2010; 12:364–73.
48. Bovet P, Yersin C, Merien F, Davis CE, Perolat P. Factors associated with clinical leptospirosis: a population-based case–control study in the Seychelles (Indian Ocean). Int J Epidemiol. 1999; 28: 583–90.
49. Takafuji ET, Kirkpatrick JW, Miller RN, Karwacki JJ, Kelley PW, Gray MR, et al. An efficacy trial of doxycycline chemoprophylaxis against leptospirosis. N Engl J Med. 1984; 310: 497–500.
50. Jacobs RA. Infectious Diseases: Spirochetal. In: Tierney LM (Jr), McPhee SJ, Papadakis MA. Eds. Current Medical Diagnosis & Treatment. 43nd edition, Mc Graw Hill, New York. 2004:1380-99.
51. Guerra M. Leptospirosis. JAVMA. 2009; 234: 472–8.
52. Levett PN. Leptospirosis. In: Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th Edition. Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (Eds). Churchill Livingstone, Philadelphia, PA, USA, 2010; 3059–65.
53. Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA, et al.

and characterization of leptospires. Indian J Med Microbiol. 2006; 24: 320-2.
67. Kositanont U, Rugsasuk S, Leelaporn A, Phulsuksombati D, Tantitanawat S, Naigowit P. Detection and differentiation between pathogenic and saprophytic Leptospira spp. by multiplex polymerase chain reaction. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007; 57: 117–22.
68. Ahmed A, Engelberts MF, Boer KR, Ahmed N, Hartskeerl RA. Development and validation of a real-time PCR for detection of pathogenic Leptospira species in clinical materials. PLoS ONE. 2009; 4:e7093.
69. Mori Y, Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. J Infect Chemother. 2009; 15: 62–9.
70. Toyokawa T, Ohnishi M, Koizumi N. Diognosis of acute leptospirosis. Expert Rev Anti Infect Ther. 2011; 9: 111-21.
71. Babamahmoodi F, Babamahmoodi A. Recovery from intracranial hemorrhage due to leptospirosis. Case Rep Med. 2011; 504308.
72. Mustafa M, Yusof IM. Leptospirosis: A contemporary infectious disease. Sci Int. (Lahore). 2012; 24: 407-10.

سوالات

۱- بهترین روش تشخیص زودهنگام بیماری لپتوسپیروز چیست؟ چرا؟

الف) MAT: تست ساده ای است که می‌توان آنتی بادی IgM و IgG را به کمک آن تشخیص داد.

ب) PCR و Real-Time PCR : بر اساس ژن‌های باکتری و مستقل از تولید آنتی بادی عمل می‌کند.

ج) ELISA : قادر به تشخیص IgM در اوایل فاز حاد بیماری است.

د) CF : با استفاده از کیت های تجاری انجام می‌شود و آنتی بادی را سریع‌تر تشخیص می‌دهد.

۲- بهترین نمونه جهت تشخیص لپتوسپیروز در هفته‌ی اول بیماری(فاز حاد) کدام است؟

الف) ادرار

ب) مایع مغزی – نخاعی

ج)مایع دیالیز

د) خون

۳- مهم‌ترین علت عملکرد ضعیف سیستم ایمنی بدن علیه لپتوسپیرا چیست؟

الف) داشتن استراتژی‌های مناسب جهت گریختن از سیستم ایمنی بدن

ب) قدرت همانندسازی سریع و تکثیر مناسب لپتوسپیرا حتی در سلول‌های ایمنی بدن

ج) خاصیت اندوتوکسین ضعیف LPS لپتوسپیرا

د) وجود بخش‌های مشابه با ساختار ایمونوگلوبولین در پروتئین های غشای لپتوسپیرا

۴- در تشخیص بیماری لپتوسپیروز به کمک روش‌های PCR، طراحی پرایمر برای کدام هدف دقیق‌ترین تشخیص را به همراه دارد؟

الف) پروتئین های Lig

ب) TNF-α

ج) IFN-γ

د) پروتئین LipL32

۵- کدام یک از گزینه های زیر محدودیت استفاده از تست MAT را در تشخص لپتوسپیروز بیان نمی‌کند؟

الف) احتیاج به ارگانیسم زنده از سروارهای مختلف

ب) واکنش‌های متقاطع در فاز حاد بیماری

ج) امکان انجام آزمایش در اغلب آزمایشگاه‌ها

د) عدم تمایز آگلوتینانهای IgG و IgM

۶- طراحی واکسن علیه کدام عامل می‌تواند مناسب‌تر باشد؟

الف) Lig A

ب) LPS

ج) سلول لیز شده باکتری

د) LLS

۷- برای آنکه بتوان حداقل یک باکتری لپتوسپیرا را در نمونه ادرار بیمار زیر میکروسکوپ شناسایی کرد، حداقل چند باکتری باید در میلی لیتر ادرار وجود داشته باشد؟

الف) ۱۰

ب) ۱۰۰

ج) ۱۰۰۰

د) ۱۰۰۰۰

۸- انتقال آلودگی در کدام روش تشخیصی **کمتر** است؟

الف) روش PCR

ب) روش MAT

ج) روش LAMP

د) روش Real-time PCR

۹- بالاترین تیتر آنتی بادی مربوط به کدام دوره و کدام نمونه است؟

الف) فاز حاد- خون

ب) هفته‌ی دوم- ادرار

ج) هفته‌ی دوم- مایع مغزی- نخاعی

د) فاز حاد- مایع مغزی- نخاعی

۱۰- مهمترین راه پیشگیری بیماری تب شالیزار چیست؟

الف) واکسیناسیون انسان‌ها

ب) استفاده از آنتی‌بیوتیک در ایام کار کشاورزان

ج) قرنطینه بیماران

د) واکسیناسیون دام‌ها