التشخيص المصلي لداء البريميات في مدينة الناصرية

Serological Diagnosis Of Leptospirosis In Al-Nasiriya City

جاسم فتحي علي[١] ، علي اسماعيل عبيد[٢] ، علي صالح حسين[٣]

[١] *وزارة الصناعة والمعادن*

[٢] *جامعة ذي قار، ذي قار ، العراق*

[٣] *كلية التربية ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق*

(تاريخ الاستلام: ٨ / ٤ /٢٠٠٩ ، تاريخ القبول: ١٧ / ٥ /٢٠٠٩)

الملخص

للفترة من الأول من نيسان ٢٠٠٧ حتى منتصف تموز ٢٠٠٨ تم في مدينة الناصرية جمع عينات دم لـ ٤٠٠ من المرضى ولـ ٤٠٠ من كل من الأبقار والأغنام ولـ ٢٠٠ من الماعز وذلك للكشف عن نسب الإصابة بداء البريميات في هذه المضائف من خلال التشخيص المصلي عن طريق الاختبارين الهامين الـ Patoc slide agglutination test (PSAT). والـ Enzyme – linked immunosorbent assay test (ELISA) المعتمدين على تحديد الجسم المضاد IgM في الأمصال المحضرة من عينات الدم ا. تبين أن نسب الإصابة المشخصة في هذه الدراسة عن طريق الاختبار المصلي PSAT في كل من الإنسان والأبقار والأغنام والماعز ١٠,٥% و ٦٥,٣% و ٥٠,٣% و ٣٦,٥% على التوالي فيما كانت نسب الإصابة المسجلة في هذه المضائف بواسطة الاختبار المصلي ELISA Test ١٠,٧% و ٦٤,٠% و ٤٩,٣% و ٣٨,٧% على الترتيب.

المقدمة

يعد داء البريميات Leptospirosis من الأمراض المشتركة Zoonosis ، التي تصيب الحيوان والإنسان ، واسعة الانتشار في مختلف أبقاع العالم مشتملة على المناطق الريفية والمدنية، المعتدلة والاستوائية ، مع ارتفاع نسب حدوث الإصابة بهذا الداء في الأقطار ذات المناخ الحار مثل أمريكا اللاتينية والهند وجنوب شرق آسيا مقارنة مع نسبها في المناطق ذات المناخ المعتدل (Everard and Everard, 1993 Natarajaseenivasan *et al*,2002; Levett, 2001; Ratnam,1994 ;).

نظرا للصعوبة البالغة في تمييز داء البريميات في جميع دول العالم وفي الدول النامية منها على وجه الخصوص، وذلك لأوجه الشبه الكبيرة بين الأعراض الناجمة عن هذا الداء مع كثير من الأمراض الأخرى مثل الأنفلونزا وحمة مالطا والتيفوئيد والملاريا والتهاب كبيبات الكلية والتسمم الكيمياوي.... الخ ، لذا كان لزاما على الباحثين إيجاد وسائل دقيقة لتمييز هذا الداء ، وهنا يأتي التشخيص المختبري الذي يلعب دورا مفصليا في الكشف عن هذا الداء وتشخيصه. وقد ظهرت العديد من طرق تشخيص هذا الداء أهمها التشخيص عن طريق عزل جراثيم الـ *Leptospira* المسببة للمرض ، إذ تمتاز هذه الطريقة من التشخيص بأفضليتها في العديد من الحالات ، خاصة في تلك الدراسات غير المحددة بفترة زمنية قصيرة إلا أن الدراسات المتعلقة بالتشخيص عن طريق العزل تعاني من القلة عالميا إذا ما قورنت بطرق التشخيص الأخرى وذلك لأسباب عديدة أهمها الحساسية العالية لتقنيات عزل هذه الجراثيم فضلا عن الصعوبة البالغة في الحصول على عزلات هذه الجراثيم من الحيوانات ، بضمنها الإنسان ، نظرا للحاجة إلى فترة تحضين طويلة تمتد بين (٤-٦)أشهر ناهيك عن الحاجة الملحة إلى تلقيح العينات المختلفة في أوساط العزل المعدة لهذا الغرض بعد الحصول عليها مباشرة، ولتواجد الأحياء المجهرية الأخرى الملوثة للعينات المستخدمة في عزل هذه الجراثيم وأخيرا للكلفة الاقتصادية العالية للأوساط الزرعية وللتقنيات الجرثومية المستخدمة في زراعة جراثيم الـ *Leptospira*. كما أكد العديد من الباحثين على الصعوبة البالغة في عزل هذه الجراثيم من العينات المختلفة على الرغم من الجزم بتواجدها في تلك العينات Abdollahpour,2007;de Freitas *et al*,2004;Bolin *et al*,1989;Faine *et al*,1974).

نتيجة للأسباب المذكورة آنفا اتجه الباحثون نحو الاعتماد على طرق أخرى أكثر سهولة وسرعة وكفاءة في تشخيص هذا الداء وفي مقدمتها التشخيص المصلي Serological diagnosis ، الذي يضم مجموعة من الاختبارات المعتمدة على قياس وتحديد مستوى الأجسام المضادة للجراثيم المسببة في أمصال الحيوانات المصابة وتقع في مقدمتها اختبار الـ Microscopic agglutination test (MAT) والـ Macroscopic agglutination test و الـ Enzyme-linked immunosorbent assay test (ELISA) والـ Complement fixation test والـ Haemagglutination test (HAT) وغيرها الكشف عن مدى انتشار داء البريميات Leptospirosis في مدينة الناصرية في كل من الإنسان باعتباره المضيف الأهم والأبقار والأغنام والماعز باعتبارها الحيوانات المنزلية الأهم والأكثر عرضة للإصابة بهذا الداء ، من خلال ملاحظة نسب الإصابة في هذه المضائف عن طريق تشخيص جراثيم الـ *Leptospira* المسببة للمرض وذلك بتحديد الجسم المضاد IgM (النوعي ضد الجراثيم المسببة) في أمصال هذه المضائف عن طريق التشخيص المصلي Serological identification باستخدام اختبارين مصليين أساسيين هما اختبار Patoc slide agglutination test (PSAT) الذي يستخدم في التشخيص المصلي لداء البريميات عبر فحص أمصال الإنسان والحيوانات المختلفة . واختبار Enzyme-linked immunosorbent assay test (ELISA) الذي يعد أكثر الاختبارات المصلية جدوى وفائدة (Ellis,1986) ،إذ انه ذو حساسية عالية وسهولة بالغة فضلا عن تحديده لمستويات كلاً من الاجسام المضادة الـIgM و الـIgG في المصل دون الحاجة إلى عمليات تجزئة المصل وذلك بواسطة استخدام الية Specific anti-IgM-IgG enzyme conjugates (Thiermannand Handsaker, 1985; Cousins *et al*, 1985; Adler *et al*,1981).

المواد وطرائق العمل

١ – العينات

للفترة الممتدة بين ١-٤-٢٠٠٧ ولغاية ١٥-٧-٢٠٠٨ جمعت عينات دم من ٤٠٠ من المرضى الذين كانوا يعانون من واحدة أو أكثر من الأعراض التي يشتمل عليها داء البريميات Leptospirosis مثل الحمى والآم الرأس الشديدة والآم في العضلات واليرقان... الخ، أثناء مراجعتهم لمستشفى الناصرية العام. تم الجمع من الوريد العضدي باستخدام محاقن طبية معقمة سعة ٥ سم^3 ووضعت في أنبوب معقم محكم الغلق سعة ٥ سم^3 لا يحوي على مانع التخثر لتحضير الأمصال منه.فضلا عن ذلك فقد تم جمع عينات دم لـ ٤٠٠ حيوان من كل من الأبقار والأغنام ولـ ٢٠٠ من الماعز من مجزرة مدينة الناصرية دون معرفة مسبقة بالتاريخ المرضي لهذه الحيوانات. جمع الدم عن طريق ملء أنابيب معقمة سعة ١٠ سم٣ من التيار الوسطي أثناء ذبح الحيوان وبأقصى سرعة لتجنب حدوث التلوث . وضع الدم في أنبوب لا يحوي مانع التخثر(Lilenbaum *et al* ,2007) .

تحضير الأمصال :

فصلت الأمصال بعد السماح لعينات الدم المجموعة في الأنابيب ، غير الحاوية على مانع التخثر ، بالتخثر بدرجة حرارة ٤مْ لمدة ٢٤ ساعة ثم أكملت عملية فصلها بالطرد المركزي بسرعة ٢٠٠٠ دورة/ دقيقة لمدة ١٥ دقيقة.

وضعت الأمصال المستحصلة في أنابيب معقمة محكمة الغلق وحفظت بدرجة حرارة -٢٠مْ لحين اجراء الفحص (Lilenbaum *et al* ,2007 ;Bush,1975) .

التشخيص باستخدام اختبار المصلي (PSAT)

اجري هذا الاختبار على جميع الأمصال بإتباع الطريقة الموصوفة من قبل (Collee *et al*, 1996) .

طريقة اختبار التلازن :

١- خفف المصل تحت الاختبار بنسبة ١ :١٠ بإضافة ١٠ مايكروليتر منه إلى ٩٠ مايكروليتر من PBS داخل أنبوب صغير.

٢- وضع ٢٠ مايكروليتر من المصل غير المخفف و ٢٠ مايكروليتر من نفس المصل بعد تخفيفه ، جنبا إلى جنب في مربعين من مربعات الصفيحة الزجاجية المعدة لهذا الغرض والمتكونة من ١٦ مربعا طول ضلع كل منها ٢,٥ سم. بهذه الطريقة يمكننا اختبار ٨ أمصال في آن واحد.

٣- أضيف ٢٠ مايكروليتر من المستضد المحضر إلى كلا المربعين ومزجت جيدا باستخدام قضبان خشبية Wooden application stick بدءا بالمربع الحاوي على المصل المخفف.

٤- دورت الصفيحة الزجاجية بسرعة ١٢٠ دورة/ دقيقة لمدة ٤ دقائق.

٥- تم قراءة النتائج بوضع الصفيحة الزجاجية ضد خلفية مظلمة مع تسليط الضوء من مصباح ضوئي باتجاه العينين وسجلت النتائج كما يلي:

a/ + + تكتل واضح جدا .

b/ + تكتل خفيف .

c/ – عدم التكتل .

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Test

تم إجراء هذا الاختبار باستخدام العدة المستحصلة من شركة(The cypress Diagnostics *Leptospira*-IgM ELISA Test Kit) .

عينات الأمصال المختبرة بهذه الطريقة هي :

a/ ٧٥ عينة من مصل الإنسان.

b/ ٧٥ عينة من مصل البقر.

c/ ٧٥ عينة من مصل الأغنام.

d/ ٧٥ عينة من مصل الماعز.

وقرت النتائج كما يلي:

a/ – عدم ظهور لون (كما في حفرة السيطرة السالبة).

b/ + ظهور لون باهت بالمقارنة مع السيطرة الموجبة .

c/ ++ ظهور لون مقارب للون السيطرة الموجبة .

d/ +++ ظهور لون مشابه للون السيطرة الموجبة.

(WHO, 2003 ; Gussenhoven *et al* , 1997 ; Adler *et al*,1980).

النتائج

1- التشخيص المصلي باستخدام اختبار

Patoc Slide Agglutination Test (PSAT)

يوضح الجدول(١)نتائج التشخيص المصلي لاختبار Patoc Slide Agglutination Test المستخدم للكشف عن الأجسام المضادة لجراثيم الـ *Leptospira* في الأمصال المستحصلة من كل من الإنسان بواقع (400) مصل والأبقار والأغنام والماعز بواقع (400) و(400) و (200) مصل على التوالي . حيث بينت النتائج أن 10.5% من أمصال الإنسان كانت موجبة لهذا الاختبار ، بينما بلغت النسب المئوية الموجبة للامصال المستحصلة من الأبقار والأغنام والماعز لهذا الاختبار 65.3 % و 50.3% و 36.5 %.

2- الشخيص المصلي باستخدام اختبار

Enzyme– Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Test

أظهرت نتائج التشخيص المصلي باستخدام اختبار ELISA test للكشف عن الأجسام المضادة نوع IgM لجراثيم الـ*Leptospira* في (75) مصل لكل من الإنسان والأبقار والأغنام والماعز أن 10.7% من أمصال الإنسان كانت موجبة لهذا الاختبار في حين بلغت النسبة المئوية لأمصال الأبقار الموجبة لهذا الاختبار 64.0% ، بينما 49.3 %من أمصال الأغنام أظهرت تفاعلا موجبا لهذا الاختبار وأخيرا كانت النسبة المئوية لأمصال الماعزالموجبة 38.7 % .الجدول(٢).

الجدول (1) نتائج اختبار Patoc Slide Agglutination Test (PSAT) للأمصال المستحصلة من مصادرها المختلفة.

مصدر الأمصال المختبرة	العدد الكلي للأمصال المختبرة	عدد الأمصال الموجبة للاختبار	النسبة المئوية (%)
الإنسان	400	42	10.5
الأبقار	400	261	65.3
الأغنام	400	201	50.3
الماعز	200	73	36.5

الجدول (٢) نتائج اختبار Enzyme – Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Test للأمصال المستحصلة من مصادرها المختلفة.

مصدر الأمصال المختبرة	العدد الكلي للأمصال المختبرة	عدد الأمصال الموجبة للاختبار	النسبة المئوية (%)
الإنسان	75	8	10.7
الأبقار	75	48	64.0
الأغنام	75	37	49.3
الماعز	75	29	38.7

المناقشة:

أظهرت نتائج التشخيص المصلي باستخدام الاختبارين Patoc Slide Agglutination Test (PAST) و Enzyme- Linked Immunosorbent Assay Test (ELISA) Test تقاربا كبيراً في نسب الإصابة بداء البريميات الملاحظة في والأبقار والأغنام والماعز كل على حدة . وكانت النسبة العليا من الإصابة بهذا الداء بين الأبقار ثم تلتها نسبة الإصابة الملاحظة بين الأغنام ثم الماعز، أما معدل نسبة الإصابة في الإنسان فقد تراوحت بين 10.5% – 10.7%.الجدولان (1) و(2).

إن ظهور النسبة العليا من الإصابة بداء البريمات بين الأبقار يؤكد ما ذهب إليه مجموعة كبيرة من الباحثين منهم (Silva *et al*,2007; Lilenbaum *et al*,2007 ;Leon-Vizcaino *et al*,1987) في أن الأبقار هي الأكثر استعداداً وتعرضاً للإصابة بهذا الداء مقارنة مع بعض الحيوانات الأخرى مثل الأغنام والماعز. كما إن ظهور نسب مهمة من الإصابة بين الأغنام والماعز يعزز ما أشار إليه العديد من الباحثين في أن المصدر الأكبر للإصابة في الأغنام والماعز هي الحيوانات الأخرى وعلى رأسها الأبقار ، إذ تنتقل جراثيم الـ *Leptospira* المسببة للمرض في الأبقار إلى الأغنام والماعز نتيجة عوامل شتى تقع في مقدمتها تلوث الغذاء والماء بالإدرار والفضلات وبقايا الأنسجة الميتة لهذه الحيوانات المصابة (Sliva *et al*,2007). أخيرا فان نسبة الإصابة المصلية المسجلة لأول مرة في بلدنا تشير إلى مدى انتشار وتفشي داء البريميات في هذا البلد وخطورة انتقاله من الحيوانات المصابة إلى الإنسان .

نظراً للصعوبة البالغة في تمييز داء البريميات في جميع دول العالم بشكل عام وفي الدول النامية منها على وجه الخصوص ، وذلك لأوجه الشبه الكبيرة بين الأعراض الناجمة عن هذا الداء مع الأعراض الناجمة عن كثير من الأمراض المعدية وغير المعدية الأخرى مثل الـ Influenzae والـ Yellow fever والـ Rickettsiosis والـBorreliosis والـBrucellosis والـMalaria والـPyelonephritis والـTyphoid fever والـ Viral hepatitis والـ Chemical poisoning .. الخ . لذا فان للتشخيص المختبري دورا مميزا واستثنائيا في تمييز هذا الداء وتشخيصه ، وهنا يأتي دور التشخيص المصلي المعتمد على تحديد الأجسام المضادة وخاصة النوع IgM منها ، والتي في مقدمتها الاختباران المصليان PSAT و ELISA test في التشخيص المبكر السريع والدقيق وغير المكلف او المجهد ، وهذا ما لا يتوفر في غيرهما من طرق التشخيص المتنوعة الأخرى كطريقة التشخيص المصلي القياسي Microscopic Agglutination Test (MAT) أو طريقة العزل بالزرع أو التشخيص

باستخدام التقنيات الجزيئية مثل DNA hybridization , Polymerase chain reaction ،إذ إن هذه الطرق تكون مكلفة اقتصاديا علاوة على حاجتها الى خاصة وبالتالي فهي غير ملائمة لاستخدامها في التشخيص الروتيني في الدول النامية على وجه الخصوص (Thiermann,1984 ; Turner,1968 ; Faine,1982) ، وعلى الرغم من أن التشخيص المصلي باستخدام اختبار الـMAT هو الأكثر استخداما في مجال التشخيص المصلي لداء البريميات وذلك لدرجة الحساسية والتخصصية العالية لهذا الاختبار (Cumberland *et al*,1999 ;Cole *et al*,1973) إلا انه في الوقت ذاته يعاني من بعض المعوقات الهامة في مقدمتها التباين الكبير في النتائج المستحصلة بين مختبر وآخر ، والحاجة إلى مختبرات متطورة جدا والى تقنيين اختصاص ذوي خبرة وكفاءة عاليتين لضمان الوصول إلى نتائج يعتمد عليها (Levett,2003) .

تعد طريقتا التشخيص المصلي الـPSAT والـ ELISA test المستخدمتان في الدراسة من أهم الاختبارات المصلية المعتمدة على التخصصية لجنس الـ *Leptospira* (Genus specific test) وهما من الطرق السريعة والواسعة الاستعمال في التشخيص المصلي لداء البريميات حيث أنهما ٨٥ تعطيان نتائج جيدة وسريعة دون الحاجة إلى المتطلبات الواجب توفرها في اختبار الـMAT (Bharti *et al* ,2003) ،إذ تعتمد هاتان الطريقتان على تحديد الأجسام المضادة نوع IgM في أمصال المصابين والأخير يمتاز بظهوره مابين اليوم الثاني إلى السادس من ظهور الأعراض (Levett,2001;Silva *et al*,1995;Watt *et al*,1988a;Adler *et al*,1980).

وهو الوقت الذي يكون فيه العلاج باستخدام المضادات الحيوية ذا جدوى كبيرة ، لذا فان التشخيص بهاتين الطريقتين يساعد كثيرا في العلاج المبكر للمرض والحيلولة دون تفاقم الحالة (Bharti *et al*,2003). علاوة على أن نسبة الـ IgM القابلة للتحديد بهاتين الطريقتين تستمر في تواجدها في أمصال المصابين لمدة تتراوح بين ثلاثة إلى ستة أشهر بعد الإصابة وبالتالي فهما أكثر حساسية في التشخيص من اختبار الـMAT في هذا المجال (Silva *et al* ,1995 ; Winslow *et al*,1997).

يمتاز اختبار الـELISA test بإمكانية استخدامه كإجراء روتيني في مختبرات المستشفيات فهو ذو حساسية تصل إلى 100% وتخصصية 93.0% في تشخيص الإصابة الحادة من داء البريميات كما أوضح ذلك الباحثون (Silva *et al*,1995 ; da Silva *et al*,1992) ، فضلا عن ذلك فان لهذا الاختبار عددا من المميزات الأخرى منها أن مستضدات جراثيم الـ *Leptospira* المستخدمة في هذا الاختبار هي مستضدات مقتولة وليست حية كما في الـMAT وهذا يجعلها أكثر أمانا واقل خطورة في التعامل مع المستضدات أثناء إجراء الاختبار كما إن النتائج في هذا الاختبار تقرأ عيانيا وليس مجهريا كما في اختبار الـMAT (Cousins *et al*.1985) ولكون الجراثيم المستخدمة في هذه التقنية هي جراثيم مقتولة بطريقة Sonication لذا فان هذا الاختبار يكشف عن جميع الأجسام المضادة لجراثيم الـ *Leptospira* ولايقتصر فقط عن الملزنات Agglutination مما يعطيها سمة مميزة أخرى عن اختبار الـMAT الذي يعتمد على تحديد الملزنات Agglutinins فقط . وكما أسلفنا فان تقنية هذا الاختبار تعد بسيطة جدا ويمكن استخدامها بشكل روتيني في جميع المختبرات المتعلقة بالتشخيص ، إذ إنها لا تتطلب إلا صفيحة مشبعة بجراثيم الـ *Leptospira* وهذه تصلح لإجراء عدد كبير من الاختبارات في آن واحد مقارنة مع اختبار الـMAT ،علاوة على أن اختبار الـELISA لا يؤدي إلى الحصول على نتائج سالبة أو موجبة كاذبة أثناء التشخيص (Silva *et al* ,1995).

يفضل اختبار ELISA test المعتمد على تحديد الـ IgM على ذلك المعتمد على غيرها من الأجسام المضادة مثل IgG و IgA اللذان لا يظهران إلا بعد 5-8 أيام من الإصابة فضلا عن إن الـIgm يظهر في امصال جميع المرضى يعملون في حين لا يمكن تحديد الـIgG الا في اقل من 90.0% من المصابين (Silva *et al*,1995). كما أشار Adler *et al* ,1980 إلى عدم إمكانية الاعتماد على تحديد الـIgG لوحده كآلية تشخيص معتمد عليها في داء البريميات .

شاع في الآونة الأخيرة استخدام Slide Agglutination Test في التشخيص المصلي السريع لداء البريميات ، إذ إن له نفس الحساسية والتخصصية التي لاختبار ELISA test المعتمد على IgM تقريبا (Cumberland *et al*,1999) . جرت محاولات عديدة لتقليل التكاليف التي يتطلبها اختبار الـ MAT وتبسيطه واختزال الجهد والوقت اللازمين لانجازه. أولى هذه المحاولات قام به الباحثون Galton *et al* ,1958 الذين ابتدعوا سنة 1958 اختبارا سمي بـ(RSAT) Rapid Slide Agglutination Test لتشخيص داء البريميات وامتاز الاختبار بسهولته وسرعة إجرائه فضلا عن السلامة المتوخاة منه ودرجة حساسيته العالية وإمكانية استخدامه عالميا لبساطته وثبوتية المستضد المستخدم في الاختبار عند حفظه في الثلاجة . قام الباحثان Stoenner and Davis,1967 بتحوير صفيحة المستضدات المستخدمة في هذا الاختبار لزيادة حساسيته واستطاعا الحصول على درجات حساسية منافسة لاختبار الـMAT في الإنسان وبعض الحيوانات.

أجرى الباحثان Wolff and Bohlander ,1967 هذا الاختبار باستخدام صفيحة حاوية على مستضدات السلالة *L.biflexa* Patoc Patoc1 واستنتجا أن الاختبار أعطى نتائج منافسة لاختبار الـMAT ، كما أكدت ذلك دراسة Mazzonelli *et al*,1974 التي أظهرت كفاءة عالية لهذا الاختبار باستخدام هذه السلالة في تشخيص داء البريميات في الإنسان وبقية الحيوانات .

أصبح التشخيص المعتمد على اختبار الـPSAT اليوم من الاختبارات المسحية والتشخيصية المعتمد عليها في تحديد الإصابات الحادة وغير الحادة من داء البريميات في العديد من المختبرات في شتى أنحاء العالم . (Faine *et al*,2000)

المصادر

- Adler, B. ; Faine, S. and Gordon, L.M. 1981. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as a serological test for detecting antibodies against
- Abdollahpour, G. 2007. A review on leptospirosis. *Leptospira* Research Laboratory, University of Tehran. Http://leptolab.ut.ac.ir/Rewiew-En.htm.

Leptospira interrogans serovar hardjo in sheep. Aust. Vet. J. 57: 414-417.

- Adler, B. ; Murphy, A.M. ; Locarnini, S.A. and Faine, S. 1980. Detection of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in human serum by solid phase enzyme linked immunosorbent assay. J. Clin. Microbiol. 11: 452-455.
- Bharti, A.R. ; Nally, J.E. ; Ricaldi, J.N. ; Matthias, M.A. ; Diaz, M.M. ; Lovett, M.A. ; Levett, P.N. ; Gilman, R.H. ; Willig, M.R. ; Gatuzzo, E. and Vintez, J.M. 2003. Leptospirosis : a zoonotic disease of global importance. Lancet. Infect. Dis. 3: 757-771.
- Bolin, C.A. ; Zuerner, R.L. and Trueba, G. 1989. Comparison of three techniques to detect *Leptospira interrogans* serovar hardjo type hardjobovis in bovine urine. Am. J. Vet. Res. 50: 1001-1003.
- Bush, B.M. 1975. Veterinary laboratory manual. The Gresham Press, Old Woking, Surrey.
- Cole J.R. ; Sulzer, C.R. and Pursell, A.R. 1973. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. Appl. Microbiol. 25: 976-980.
- Collee, J.G. ; Fraser, A.G. ; Marmion, B.P. and Simmons, A. 1996. Mackie and McCarteny practical medical microbiology. 14th. Ed., Churchill Livingstone Inc., New York. PP. 3-926.
- Cousins, D.V. ; Robertson, G.M. and Hustas, L. 1985. The use of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detect the IgM and IgG antibody response to *Leptospira interrogans* serovars hardjo, pomana and tarassovi in cattle. Vet. Microbiol. 10: 439-450.
- Cumberland, P. ; Everard, C.O. and Levett, P.N. 1999. Assessment of the efficacy of an IgM-elisa and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of leptospirosis. Am. J. Trop. Med. And Hyg. 61: 731-734.
- da Silva, M.V., Camargo, E.D. ; Vaz, A.J. and Batista, L. 1992. Immunodiagnosis of human leptospirosis using saliva. Trans R. Soc. Trop. Med. And Hyg. 86: 560-561.
- de Freitas, J.C. ; da Silva, F.G. ; de Oliveira, R.C. ; Delbem A.C.B. ; Muller, E.E. ; Alves, L.A. and Teles, P.S. 2004. Isolation of *Leptospira spp*. From dogs, bovine and swine naturally infected. Ciencia Rural, Santa Maria 34(3): 853-856.
- Everard, J.D. and Everard, C.O.R. 1993. Leptospirosis in Caribbean, Rev. Med. Microbiol. 4: 114-122.
- Faine, S. 1982. Guidelines for the control of leptospirosis. WHO. Geneva, Switzerland.
- Faine, S. Adler, B. and Palit, A. 1974. Chemical, serological and biological properties of a serotype-specific polysaccharide antigen in *Leptospira*. Aust. J. Exp. Boil. Med. Sci. 52: 311-319.
- Faine, S. ; Adler, b. ; Bolin, C. and Perolate, P. 2000. *Leptospira* and Leptospirosis. Med. Sci., Melbourne, Australia, 2nd ed.
- Galton, M.M. ; Powers, D.K. ; Hall, A.M. and Cornell, R.G. 1958. A rapid macroscopic slide screening test for the serodiagnosis of leptospirosis. Am. J. Vet. Res. 19: 505-512.
- Gussenhoven , G.C. ; Van der Hoom, M. and Goris, M. 1997. LEPTO dipstick, a dipstick assay for detection of *Leptospira* specific immunoglobulin M antibodies in human sera. J. Clin. Microbiol. 35(1) : 92-97.
- Levett, P.N. 2001. Leptospirosis. Clin. Microbiol. Rev. 14(2): 296-326.
- Levett, P.N. 2003. Usefulness of serologic analysis as a predictor of the infection serovar in patients with severe leptospirosis. Clin. Infect. Dis. 36: 447-452.
- Leon-Vizcaino, L. ; Mendoza, M.H. and Garrido, F. 1987. Incidence of abortions caused by leptospirosis in sheep and goats in Spain. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. 10: 149-153.
- Lilenbaum, W. ; Morais, Z.M. ; Goncales, A.P. ; de Souza, G.O.; Richtzenhain, L. and Vasconcellos, S.A. 2007. First isolation of leptospires from dairy goats in Brazil. Bra. J. Microbiol. 38: 507-510.
- Mazzonelli, J.D. ; Mazzonelli, M. and Mailloux, M. 1974. Possibilitede diagnostic serologique macroscopique de lepto-spiroses al'aide dun antigene unique. Med. Mal. Infect. 4: 253-254.
- Natarajaseenivasan, K. ; Boopalan, M. ; Selvanayaki, K. ; Suresh, S.R. and Ratnam, S. 2002. Leptospirosis among rice mill workers of Salem, South India. Jpn. J. Infect. Dis. 5: 170-173.
- Ratnam, S. 1994. Leptospirosis : an Indian perspective. Ind. J. Med. Microbiol. 12: 228-239.
- Silva, E.F. ; Brod, C.S. ; Cerqueira, G.M. ; Bourscheidt, D. ; Seyffert, N. ; Queiroz, A. ; Santos, C.S. ; KO, A.I. and Odir, A. 2007. Isolation of *Leptospira noguchii* from sheep. Vet. Microbiol. 121(1-2): 144-149.
- Silva, M.V. ; Camargo, E.D. ; Batista, L. ; Vaz. A.J. ; Brandao, A.P. ; Nakamura, P.M. and Negrao, J.M. 1995. Behaviour of specific IgM, IgG and IgA class antibodies in human leptospirosis during the acute phase of the disease and during convalescence. J. Trop. Med. and Hyg. 98: 268-272.
- Stoenner, H.G. and Davis, E. 1967. Further observations on leptospiral plate antigens. Am. J. vet. Res. 28: 259-266.
- Thiermann, A.B. 1984. Leptospirosis : Current development and trends. J. Am. Vet. Med. Assoc. 184: 722-725.
- Thiermann, A.B. and Handsaker, A.L. 1985. Experimental infection of calves with *Leptospira interrogans* serovar hardjo : Conjunctival versus intravenous route of exposure. Am. J. Turner, L.H. 1968. Leptospirosis . II Serology Trans. Roy. Soc. Trop. Med. And Hyg. 62: 882-889..
- Watt. G. ; Alquiza, L.M. ; Padre, L.P. ; Tuazon, M.L. and Laughlin, L.W. 1988a. the rapid diagnosis of leptospirosis : a prospective comparison of the dot enzyme linked immunosorbent assay and the genus specific microscopic agglutination test at different stages of illness. J. Infect. Dis. 157: 840-842.
- Winslow, W.E. ; Merry, D.J. ; Pirc, M.L. and Devin, P.L. 1997. Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglotulin M antibody in diagnosis of human leptospiral infection. J. Clin. Microbiol. 35: 1938-1942.

- Wolff, J.W. and Bohlander, J. 1967. Screening tests in human serum samples with *Leptospira biflexa* antigens incorporated in Galton's macroscopic slide test. Trop. Beogr. Med. 19: 63-69.
- World Health Organization (WHO). 2003. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surfveillance and control. International leptospirosis society. wHO Library Cataloguing -in-Publication Data. ISBN 92 4 15 45 89 5.

Abstract

During the period from April 2007 to the middle of July 2008, blood specimens were collected from 400 of patients ,400 from each of cattle and sheep , and ٨٧ om goats. Sera from all mentioned blood samples were prepared and screened for leptospirosis infection rates in these hosts by using the two serologic important tests, Patoc slide agglutination test (PSAT) and Enzyme-linked immunosorbent assay test (ELISA test). The results showed that the rates of infection with leptospirosis in human, cattle, sheep, and goats diagnosed with PSAT were 10.5%, 65.3%, 50.3% and 36.5% respectively, while the rates of infection in these hosts diagnosed with ELISA test were 10.7%, 64.0%, 49.3% and 38.7 successively.