Online ISSN: 2251-6190 **Journal of Veterinary Research** *Original Article*

DOI: 10.22059/jvr.2023.362636.3367

Prevalence of Leptospirosis in Cats with Renal Failure: Serologic Study and Urinary Molecular Evaluation

Sajjad Alizadeh[1], Shahram Jamshidi[2], Gholamreza Abdollapour[2], Hamidreza Moosavian[2], Hesam Akbarein[3], Zahra Sadat Yousefsani[4]

[1] Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

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

[3] Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

[4] Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Uncorrected Proof

Backgound: Leptospirosis is a common disease between humans and animals with a global spread. Serological prevalence of leptospirosis in cats has been reported between 4.8 and 35 % depending on geographical location and different diagnostic methods.

Objectives: The objective of this study was to assess the seropositivity and urinary PCR status of *Leptospira spp*. in both healthy cats and those with renal failure.

Methods: Whole blood samples and urine were obtained from 64 stray cats. Anti-Leptospira antibodies were detected in the sera using MAT. DNA was extracted from the urine of each subject and direct detection of *Leptospira spp* was performed in the urine by PCR. Based on the complete blood count, serum biochemistry profile, and urinalysis the cats were classified to the health group (without renal failure) and kidney disease group (with acute or chronic renal failure).

Results: Out of 64 cats, 12 cats were positive for serum titer and 10 cats were positive for urine contamination in molecular evaluation. Therefore, the prevalence of leptospirosis infection in the population was reported as 18.75% and 15.62 % based on microscopic agglutination tests and molecular tests, respectively. The most common serovars detected serologically were Canicola (n = 6) and Ballum (n = 4). Seropositivity for *Leptospira spp.* was statistically different between groups: 12.5 % (7/56) and 62.5 % (5/8) in the health group and renal failure group, respectively ($P = 0.05$). Statistical analysis of the

DOI: 10.22059/jvr.2023.362636.3367

data showed that infection with *Leptospira spp*., in cats is a risk factor for the development of renal failure. (OR: 11.66, CI95 %: 2.72-56.89, $P<0.05$).

Conclusions: According to the results of the present study, the prevalence of *Leptospira* in cats is considerable, and it should be considered both from a public health perspective and as a potential factor for the development of renal failure.

Keywords: Cats, Kidney, Leptospirosis, Microscopic agglutination test, Serology

Table 1. Gene-specific primers used in PCR.

Table 2. Comparison of mean ± standard error of hematological and biochemical values in cats with and without Leptospira.

Table 3. Results of MAT in cats infected with Leptospira.

شیوع لپتوسپیروز در گربه‌های مبتلا به نارسایی کلیوی: مطالعه سرولوژیک و ارزیابی مولکولی ادرار

عنوان کوتاه: شیوع لپتوسپیروز در گربه های مبتلا به نارسایی کلیوی

خلاصه:

زمینه مطالعه: لپتوسپیروز یک بیماری مشترک بین انسان و حیوان با گسترش جهانی است. شیوع سرمی لپتوسپیروز در گربه‌ها بین ۴/۸ درصد تا ۳۵ درصد بسته به موقعیت جغرافیایی و روش‌های تشخیصی مختلف گزارش شده است.

هدف: هدف از این مطالعه، بررسی وضعیت *گونه‌های لپتوسپیرا* در PCR ادرار و همچنین مثبت بودن سرمی آن‌ها در گربه‌های سالم و بیمار است.

روش کار: در این پژوهش از ۶۴ گربه ولگرد نمونه خون و نمونه‌ی ادرار اخذ شد. حضور و یا عدم حضور آنتی‌بادی‌های ضدلپتوسپیرا در سرم توسط آزمایش MAT مورد بررسی و آزمایش قرار گرفتند. همچنین DNA از ادرار تمامی گربه‌ها استخراج شد و به وسیله آزمایش PCR مستقیما برای تشخیص *گونه‌ی لپتوسپیرا* به کار گرفته شد. تمام گربه‌ها بر اساس شمارش تعداد تمامی سلول‌های خونی، پروفایل بیوشیمیایی سرم و آنالیز ادرار، در ۲ گروه، گربه‌های سالم و ناسالم از لحاظ بیماری‌های کلیوی دسته‌بندی شدند.

نتایج: از بین ۶۴ گربه، ۱۲ گربه تیتر سرمی مثبت داشتند و نتیجه ارزیابی مولکولی نمونه‌ی ادرار ۱۰ گربه مثبت بود. بنابراین شیوع عفونت لپتوسپیروزیس در بین گربه‌ها بر اساس آزمون‌های انعقاد میکروسکوپی (MAT) و آزمون‌های مولکولی به ترتیب ۱۸/۷۵

Uncorrected Proof

DOI: 10.22059/jvr.2023.362636.3367

درصد و ۱۵/۶۲ درصد گزارش شد. سرووارهای متداول‌تر که در تست سرولوژیکی تشخیص داده شده بودند؛ شامل کانی‌کولا و بالوم بودند. در نتیجه‌ی بررسی‌های آماری، مثبت بودن سرولوژیکی *گونه‌های لپتوسپیرا* در بین دو گروه گربه‌های سالم و ناسالم متفاوت بود، به طوری که در بین گربه‌های سالم این مقدار برابر ۱۲/۵ درصد (۷ از ۵۶) بوده و در بین گروه گربه‌های ناسالم برابر ۶۲/۵ درصد (۵ از ۸) می‌باشد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که گربه‌های مبتلا به *لپتوسپیرا* می‌توانند مستعد ابتلا به بیماری‌های کلیوی باشند.

نتیجه‌گیری نهایی: با توجه به نتایج مطالعه‌ی حاضر، شیوع *لپتوسپیرا* در گربه‌ها قابل توجه است و باید هم از منظر بهداشت عمومی و هم به‌عنوان عاملی بالقوه برای ایجاد بیماری کلیوی در نظر گرفته شود.

کلید واژه‌ها: آزمون انعقاد میکروسکوپی، سرولوژی، کلیه، گربه، لپتوسپیروزیس

مقدمه

نارسایی مزمن کلیوی از بیماری‌های شایع در بین گربه‌ها بوده که شیوع آن با افزایش سن بیشتر می‌شود. میانگین سنی در بین گربه های مبتلا به نارسایی مزمن کلیوی ۹/۲ الی ۱۲ سال بوده و بیش از ۱۵ درصد گربه های بالاتر از ۱۵ سال مبتلا به بیماری می‌باشند (۱،۲). مطالعات نشان می‌دهد ۱/۶ درصد الی ۲۰ درصد کل گربه ها در طول زندگی خود مبتلا به نارسایی کلیوی می‌شوند (۳،۴). با پیشرفت بیماری کلیوی طول عمر بیماران به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد، طوریکه میانگین طول عمر بیمارانی که در مراحل ۲، ۳ و ۴ نارسایی مزمن کلیوی قرار گرفته‌اند به ترتیب ۱۱۵۱، ۷۷۸ و ۱۰۳ روز گزارش شده است (۵).

برخی از عوامل مادرزادی و اکتسابی همانند دوره‌های مکرر آسیب حاد کلیوی، انسداد مجاری ادراری، نفروتوکسین‌ها، پیلونفریت یا جراحات ایسکمیک از عوامل شناخته شده در ایجاد نارسایی مزمن کلیوی در گربه‌ها می‌باشد (۶). با این حال بسیاری از عوامل دیگر از جمله عوامل عفونی مزمن احتمالاً نقش مهمی در ایجاد بیماری دارند. مطالعات اخیر نشان می‌دهند، عفونت‌های مزمن دندانی از عوامل مهم در ایجاد و پیشرفت بیماری‌های کلیوی در گربه‌هاست (۶).

بیماری لپتوسپیروزیس که توسط گونه‌ها و سرووارهای مختلف باکتری *لپتوسپیرا* ایجاد می‌شود، گسترده‌ترین بیماری زئونوز در دنیا بوده و در تمام پستانداران ایجاد بیماری می‌کند (۷،۸). بر طبق مطالعات مختلف بسته به مناطق مختلف جغرافیایی شیوع

DOI: 10.22059/jvr.2023.362636.3367

لپتوسپیروزیس در گربه‌ها بر اساس تیتر سرمی ۴/۸ درصد الی ۳۵ درصد گزارش شده است (۹،۱۰). با آنکه در پستانداران مختلف *لپتوسپیرا* یکی از عوامل ایجاد بیماری‌های کلیوی می‌باشد، هنوز نقش *لپتوسپیرا* در بروز مشکلات کلیوی در گربه‌ها تایید نشده است. این در حالی است که گربه‌ها به ویژه گربه‌های بیرون از خانه، به علت آن‌که در تماس مستقیم با ادرار موش و رت به عنوان ذخایر مهم باکتری *لپتوسپیرا* می‌باشند، خطر آلودگی در آنان بالاست (۱۱). آلوده شدن گربه‌ها با *لپتوسپیرا* نه تنها از نظر جنبه سلامتی گربه‌ها اهمیت دارد، بلکه به علت ارتباط گربه‌ها با جمعیت‌های انسانی از نظر بهداشت عمومی در انسان نیز حائز اهمیت است (۱۲).

هدف از مطالعه حاضر ارزیابی میزان تیتر *لپتوسپیرا* و تعیین سرووارهای باکتریایی مسبب آلودگی در گربه‌ها و ارتباط آن با بروز نارسایی کلیوی می‌باشد. همچنین ادرار گربه‌ها به عنوان یک مخزن احتمالی آلودگی و دفع باکتری مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت.

مواد و روش کار

این مطالعه به صورت یک مطالعه مقطعی در بازه زمانی بهار تا زمستان ۱۴۰۱ انجام شد. براساس تعداد نمونه برآورد شده، ۶۴ قلاده گربه بالغ بی‌سرپرست شهر مشهد به صورت تصادفی بدون توجه به جنس و نژاد، به صورت زنده‌گیری از نقاط مختلف شهر مشهد جمع‌آوری شدند. تمام گربه‌های مطالعه حاضر براساس الگوی دندانی از نظر سن بالغ بودند ولی به دلیل نبود سابقه‌ی مشخص تخمین دقیق سن آن‌ها امکان پذیر نبود. از هر گربه مورد مطالعه مقدار ۵ سی‌سی خون از ورید جاگولار جهت انجام تست‌های سرولوژی، شمارش کامل سلول‌های خونی (CBC)، تست‌های بیوشیمیایی شامل اندازه‌گیری سطح سرمی کراتینین خون و اوره اخذ شد و مقدار ۱ سی‌سی از سرم خون در فریزر با دمای ۲۰- سانتی گراد جهت تست سرولوژی ذخیره می‌شد. جهت آنالیز ادرار و تست مولکولی از هر حیوان ۳ سی‌سی ادرار با روش اسپیراسیون با سوزن گیج ۲۲ تحت هدایت سونوگرافی در حالت گماری خوابیده به پشت از مثانه اخذ گردید. تست‌های CBC و بیوشیمیایی به ترتیب با دستگاه‌های نیهون کهدن مدل MEK6450 و میندری مدل BS200E اندازه گیری شدند. در بررسی ادراری آنالیز کامل ادراری شامل وزن مخصوص ادرار، بررسی وضعیت کلوگز، پروتئین، کتون بادی PH، بیلی‌روبین و خون مخفی در ادرار با نوار ادراری (Analyticon®) و بررسی سدیمان ادرار و نسبت پروتئین به کراتینین انجام شد. گربه‌هایی که در دوبار نمونه‌گیری با فاصله ۴۸ ساعت و دریافت مایع‌درمانی، کراتینین بالاتر از ۱/۸ میلی گرم در دسی‌لیتر داشته و وزن مخصوص ادراری پایین را به صورت ایزوستن اوریا پایدار نشان می‌دادند به عنوان نارسایی کلیوی حاد یا مزمن درنظر گرفته می‌شدند.

Uncorrected Proof

DOI: 10.22059/jvr.2023.362636.3367

از روش آگلوتیناسیون میکروسکوپیک، به عنوان تست سرولوژی برای ارزیابی تیتر سرمی *لپتوسپیرا* در آزمایشگاه مرکز تشخیص لپتوسپیروز دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران استفاده شد. نمونه‌های سرمی جهت *لپتوسپیرا اینتروگانس* سروارهای *پومونا*، *کانی‌کولا*، *هاردجو*، *ایکترهموراژیه*، *براتیسلاوا*، *پومونا*، *بالوم* و *لپتوسپیرا کرشنری* سروار *گریپوتیفوسا* بررسی شدند. عیار بزرگتر یا مساوی از ۱:۱۰۰ مثبت تلقی شد و عیارسنجی نهایی در رقت‌های ۱:۱۰۰، ۱:۲۰۰، ۱:۴۰۰ و ۱:۸۰۰ انجام شد. جهت استخراج DNA در نمونه‌های ادرار از کیت استخراج DNA (BIONEER®) طبق پروتکل تولید کننده استفاده شد. بر روی DNA استخراج شده واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با پرایمرهای اختصاصی انجام گرفت. حجم واکنش PCR انجام شده در این پژوهش ۲۵ میکرولیتر در نظر گرفته‌شد که این حجم شامل ۱ میکرولیتر محلول استخراج DNA، ۱۲ میکرولیتر محلول Amplicon Red Taq 2x mastermix و ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها و ۱۰ میکرولیتر آب مقطر بود. پس از ورتکس، میکوتیوب‌های داخل دستگاه ترموسایکلر TC512 انجام شد. مرحله pre-denaturation در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ دقیقه انجام شد سپس مرحله denaturation با ۳۰ سیکل در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه انجام گردید. یک مرحله annealingدر دمای ۵۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، یک مرحله Extension در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ ثانیه و در نهایت مرحله Extension نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد.

پس از پایان مراحل، باندهای DNA با رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید و الکتروفورز، برروی ژل آگارز ۲ درصد آنالیز شدند.

جهت آنالیز داده‌ها از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ استفاده شد. جهت ارزیابی نرمالیتی داده‌ها از آزمون شاپیروویلک و جهت آنالیز داده‌ها از آزمون‌های آماری تی تست مستقل و آزمون همبستگی مربع کای استفاده شد. $P<۰/۰۵$ به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.

نتایج

از ۶۴ قلاده گربه، در مجموع ۱۲ قلاده از نظر تیتر سرمی و ده قلاده همزمان از نظر آلودگی ادرار با *لپتوسپیرا* در ارزیابی مولکولی مثبت بوده و سایر گربه‌ها در هر دو ارزیابی نتایج منفی نشان دادند. از این رو شیوع آلودگی با *لپتوسپیرا* در جمعیت گربه‌های مورد مطالعه بر اساس آزمون‌های آگلوتیناسیون میکروسکوپی و مولکولی ادرار به ترتیب ۱۸/۷۵ درصد و ۱۵/۶۲ درصد گزارش شد. بر طبق نتایج بیوشیمی و آنالیز ادرار، از نظر ابتلا به نارسایی کلیوی (حاد و مزمن)، تعداد ۵۶ قلاده سالم و ۸ قلاده نارسایی کلیوی را نشان دادند. از ۵۶ قلاده سالم تعداد ۴۹ قلاده تیتر سرمی منفی و ۷ قلاده تیتر سرمی مثبت داشتند. از ۸ قلاده با نارسایی کلیوی ۳ قلاده

Uncorrected Proof

DOI: 10.22059/jvr.2023.362636.3367

تیتر منفی و ۵ قلاده تیتر سرمی مثبت بر علیه عفونت *لپتوسپیرا* نشان دادند. با توجه به این نتایج شیوع تیتر سرمی مثبت در گربه‌های سالم از نظر عملکرد کلیه ۱۲/۵ درصد، و در گربه‌های مبتلا به نارسایی کلیوی ۶۲/۵ درصد بود. آنالیز آماری داده‌ها نشان داد، ابتلا به *لپتوسپیرا* در گربه‌ها یک ریسک فاکتور برای بروز بیماری کلیوی می‌باشد (OR: 11.66, CI95%: 2.72-56.89, $P<0.05$). همچنین نتایج نشان داد میزان هماتوکریت به طور معنادار در گربه‌های مبتلا به *لپتوسپیرا* کمتر و اوره و کراتینین بیشتر بود ($P<۰/۰۵$) (جدول ۱). بر طبق نتایج آگلوتیناسیون میکروسکوپی، از ۱۲ نمونه مثبت سرمی، ۶ مورد سروووار *کانی‌کولا*، ۴ مورد سروووار *بالوم*، یک مورد *گریپوتیفوسا* و یک مورد *پومونا* تشخیص داده شد. فراوانی سروووارها و میزان تیتر ارزیابی شده در هر سروووار در جدول شماره ۲ نشان داده شده‌است. بر طبق نتایج حاضر بیشترین سروووار دیده شده در بیماران و بیشترین میزان تیتر مربوط به سروووار *کانی‌کولا* بود.

بحث

برخلاف نتایج بدست آمده از برخی مطالعات مبنی بر مقاومت گربه‌ها در برابر بروز بیماری بالینی ناشی از آلودگی با لپتوسپیرا، اخیرا شواهدی مبنی بر بروز بیماری لپتوسپیروز به ویژه آسیب‌های کلیوی در گربه گزارش شده است. چندین مطالعه نشان داده‌اند که گربه‌ها می‌توانند *لپتوسپیرا* را در ادرار خود دفع کنند و بنابراین می‌توانند میزبان مخزن *لپتوسپیرا* باشند. با توجه به محدودیت مطالعات صورت گرفته در این زمینه و نیز با توجه به اهمیت بیماری‌های کلیوی در گربه‌ها از یک سو و نیز اهمیت بیماری لپتوسپیروز به عنوان یک بیماری زئونوتیک از سوی دیگر، هدف از مطالعه حاضر بررسی تیتر سرمی لپتوسپیروز و ارزیابی مولکولی دفع ادراری باکتری در گربه‌ها و ارتباط آن با بروز بیماری کلیوی بود. در این مطالعه برای اولین بار ارزیابی مولکولی لپتوسپیرا؛ در کنار ارزیابی سرمی آن برروی گربه‌ها در ایران انجام شده است. همچنین ارزیابی دقیقی برروی سلامت کلیه جهت بررسی میزان اثر بیماری بر روی این ارگان؛ انجام شد. بر طبق نتایج بدست آمده شیوع آلودگی با*لپتوسپیرا* در جمعیت گربه‌های مورد مطالعه بر اساس آزمون‌های آگلوتیناسیون میکروسکوپی و مولکولی ادرار به ترتیب ۱۸/۷۵ درصد و ۱۵/۶۲ درصد تخمین زده شد. از آنجا که عوامل جغرافیایی از جمله بهداشت، کنترل جوندگان به عنوان مخزن بیماری و رطوبت هوا بر شیوع بیماری اثر می‌گذارد، شیوع لپتوسپیروز در حیوانات در مناطق مختلف جغرافیایی بسیار متفاوت است. بر طبق مطالعات مختلف بسته به مناطق مختلف جغرافیایی شیوع لپتوپیروزیس در گربه‌ها بر اساس تیتر سرمی ۴/۸ درصد الی ۳۵ درصد گزارش شده است (۹،۱۰). علاوه بر این، با توجه به تغییر شرایط دمایی و رطوبت، شیوع بیماری و تیتر سرمی در یک منطقه در فصول مختلف سال نیز متفاوت بوده، و تعداد بیماران در فصول گرم و مرطوب افزایش می‌یابد (۱۳،۱۴).

DOI: 10.22059/jvr.2023.362636.3367

در مطالعه‌ای که بر روی گربه‌های خانگی و گربه‌های بی‌سرپناه شهر تهران انجام شده‌است؛ ۹۴/۷ درصد از گربه‌های بی‌سرپناه آلوده به *لپتوسپیرا اینتروگانس* با سرووار *کانی‌کولا* و ۵/۷ درصد آلوده به *لپتوسپیرا* گونه *اینتروگانس* با سرووار *پومونا* بودند. در گربه‌های خانگی ۵۴/۵ درصد آلوده به سرووار *هاردجو* و ۲۷/۳ درصد آلوده به سرووار *ایکترهموراجیه* و ۹ درصد آلوده به سرووار *گریپتوفوزا* بودند (۱۵). در مطالعه‌ای که ارزیابی سرمی برروی گربه‌های در سطح شهر مشهد و گربه‌های ساکن در گاوداری گاوهای شیری در مشهد انجام شده‌است؛ ۱۲/۹۲ درصد از گربه‌ها آلوده به *لپتوسپیرا* بوده‌اند. حداکثر تیتر سرمی در این گربه‌ها ۱:۲۰۰ بوده‌است. شایع‌ترین سرووار در بین گربه‌های آلوده، *هاردجو* بوده است. همچنین گربه‌ها به سروارهای *پومونا* و *ایکترهموراژیه* نیز آلوده بوده‌اند. این مطالعه نشان داد که گربه‌های ساکن در گله‌های گاو شیری؛ بیشترین آلودگی را نسبت به گربه‌های در سطح شهر داشته‌اند(۱۶).

از آنجا که جوندگان به عنوان مخزن باکتری در جمعیت می‌باشند، افزایش تعداد بی‌رویه آنان که به ویژه در شرایط کاهش بهداشت نیز بیشتر می‌شود، می‌تواند از علل مهم گسترش بیماری برای انسان و سایر پستانداران باشد. با توجه به رفتار شکار گربه و تغذیه گربه‌ها از جوندگان خطر آلودگی برای گربه ها می تواند افزایش یابد. از طرفی با توجه به ارتباط اجتماعی نزدیک گربه‌ها به انسان به عنوان یک حیوان خانگی، در صورت افزایش آلودگی در گربه‌ها خطر آلودگی در انسان نیز بیشتر می‌شود. در مطالعه حاضر شواهد مبنی بر دفع باکتری از طریق ادرار در ۱۵/۶۲ درصد گربه‌ها دیده شد؛ که آمار قابل توجهی است. نتایج Rodriguez و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان داد بیش از ۱۰ درصد گربه‌های خانگی از نظر تیتر *لپتوسپیرا* مثبت بودند (۱۷). نتایج حاصل از این مطالعه آمار بدست آمده از مقاله‌ی Rodriguez و همکاران در سال ۲۰۱۴ را تایید کرد. این در حالی است که در نتایج حاضر شیوع آلودگی با *لپتوسپیرا* تقریبا دو برابر بیشتر بود. با توجه به آنکه در این مطالعه انتخاب گربه ها از جمعیت گربه‌های بی‌سرپناه و رها در شهر بود، این نتایج مقایسه‌ای منطقی بوده و خود می‌تواند حاکی از نقش مهم بهداشت در شیوع بیماری باشد. شاید تا حدی بتوان از نوع سرووار شناسایی شده در گربه‌ها مخزن بیماری را در یک جمعیت شناسایی کرد. در مطالعه‌ای که در کانادا بر روی گربه‌های خانگی صورت گرفت بیشترین سرووار شناسایی شده شامل *پومونا* و *براتیسلاوا* بود، از این رو محققان گاو و خوک را به عنوان مخازن اصلی آلودگی برای گربه در آن منطقه اعلام کردند (۱۷).

DOI: 10.22059/jvr.2023.362636.3367

در مطالعه حاضر در ارزیابی نوع سرووار، در مجموع ۴ نوع سرووار از *گونه لپتوسپیرا* اینتروگانس شناسایی شد. بر طبق نتایج بدست آمده بیشترین آلودگی با سرووار *کانی‌کولا* و بعد از آن سرووار *بالوم* بود. تنها یک مورد از هر کدام از سروارهای *اینتروگانس* و *پومونا* دیده شد. توجه به شناسایی تعداد قابل توجهی از سروارهای *کانی‌کولا* و نیز *بالوم* احتمالا سگ‌ها و جوندگان نقش مهمی در انتقال بیماری به گربه‌ها داشته اند (۱۸،۱۹). مطالعات در مورد سرووار *بالوم* محدود می‌باشد. این سرووار یکی از سروارهای مهم در موش بوده که سبب عفونت کلیوی می‌شود (۱۹). در ارزیابی ارتباط بین *لپتوسپیرا* با حضور بیماری کلیوی نتایج نشان داد شیوع تیتر سرمی مثبت در گربه های سالم از نظر عملکرد کلیه ۱۲/۵ درصد، و در گربه‌های مبتلا به نارسایی کلیوی ۶۲/۵ درصد بود. بر طبق نتایج آزمون همبستگی، ابتلا به *لپتوسپیرا* در گربه‌ها یک ریسک فاکتور برای بروز بیماری کلیوی می‌باشد. این در حالی است که در بسیاری از موارد نارسایی کلیوی در گربه‌ها به نقش احتمالی *لپتوسپیرا* در پاتوژنز بیماری توجه کافی نمی‌شود. در مطالعه دیگری که بر روی شیوع *لپتوسپیرا* و ارتباط آن با نارسایی کلیوی در گربه‌ها صورت گرفت، شیوع آلودگی در گربه‌های مبتلا به نارسایی کلیوی ۹/۴ درصد و در گربه های با کلیه سالم ۷/۲ درصد گزارش شد (۱۷). مطالعات نشان می‌دهد، *لپتوسپیرا اینتروگانس* از جمله سروارهای *بالوم* و *ایکتروهموراژیه* می‌تواند سبب نفریت بینابینی مزمن، گلومرولونفریت پرولیفراتیو و نارسایی کلیوی در گوشتخواران شود (۱۹).

نتیجه‌گیری نهایی: نتایج مطالعه حاضر حاکی از شیوع نسبتا بالای تیتر *لپتوسپیرا* در گربه‌های بی‌سرپرست در ایران بود. همچنین نتایج نشان داد *لپتوسپیرا* احتمالا به عنوان یک عامل خطر برای بروز بیماری کلیوی در گربه‌ها است و این می‌تواند در درمان و مدیریت بیماری کلیوی در گربه‌ها به عنوان یکی از بیماری‌های شایع گربه و نیز از جنبه بهداشت عمومی برای انسان و سایر حیوانات که در ارتباط نزدیک با ادرار گربه می‌باشند اهمیت داشته باشد. با این حال عدم توجه به سن، جنس، فقدان مطالعه هیستوپاتولوژی و کشت ادرار از محدودیت‌های مطالعه حاضر بود، که باید جهت ارزیابی بیشتر در سایر مطالعات مورد توجه قرار گیرد.

سپاسگزاری

از زحمات دکتر اشرافی و آزمایشگاه مولکولی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی مشهد و پرسنل کلینیک دامپزشکی امید واقع در مشهد تشکر و قدردانی می‌شود.

1. DiBartola SP, Rutgers HC, Zack PM, Tarr MJ. Clinicopathologic findings associated with chronic renal disease in cats: 74 cases (1973-1984). J Am Vet Med Assoc. 1987 1;190(9):1196-202. PMID: 3583899

DOI: 10.22059/jvr.2023.362636.3367

2. Chen H, Dunaevich A, Apfelbaum N, Kuzi S, Mazaki-Tovi M, Aroch I, Segev G. Acute on chronic kidney disease in cats: Etiology, clinical and clinicopathologic findings, prognostic markers, and outcome. J Vet Intern Med. 2020;34(4):1496-506. doi: https://doi.org/10.1111/jvim.15808 PMID: 32445217

3. Legatti SA, El Dib R, Legatti E, Botan AG, Camargo SE, Agarwal A, Barretti P, Paes AC. Acute kidney injury in cats and dogs: a proportional meta-analysis of case series studies. PloS one. 2018 25;13(1):e0190772. doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190772 PMID:29370180

4. Lund EM, Armstrong PJ, Kirk CA, Kolar LM, Klausnor JS. Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States. J Am Vet Med Assoc. 1999 1;214:1336-41. PMID: 10319174

5. Boyd LM, Langston C, Thompson K, Zivin K, Imanishi M. Survival in cats with naturally occurring chronic kidney disease (2000–2002). J Vet Intern Med. 2008 ;22(5):1111-7. doi: https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0163.x PMID: 18691369

6. Finch NC, Syme HM, Elliott J. Risk factors for development of chronic kidney disease in cats. J Vet Intern Med. 2016 ;30(2):602-10. doi: https://doi.org/10.1177/1098612X15625453 PMID: 26792680

7. L Sebastian JF, Reagan KL, Peavy T, Zecca IB, Hamer SA, Sykes JE. Evaluation of *Leptospira* infection and exposure in free-roaming cat populations in northern California and southern Texas. J Feline Med Surg. 2023 ;25(3):1098612X231162471. doi: https://doi.org/10.1177/1098612X231162471 PMID: 36946598

8. Ko AI, Goarant C, Picardeau M. *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. Nat Rev Microbiol. 2009 ;7(10):736-47. doi: https://doi.org/10.1038/nrmicro2208 PMID: 19756012

9. Khalili M, Sakhaee E, Amiri FB, Safat AA, Afshar D, Esmaeili S. Serological evidence of leptospirosis in Iran; A systematic review and meta-analysis. Microb Pathog. 2020 1;138:103833. doi: https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103833 PMID: 31698052

10. Mazzotta E, De Zan G, Cocchi M, Boniotti MB, Bertasio C, Furlanello T, Lucchese L, Ceglie L, Bellinati L, Natale A. Feline Susceptibility to Leptospirosis and Presence of Immunosuppressive Co-Morbidities: First European Report of L. interrogans Serogroup Australis Sequence Type 24 in a Cat and Survey of *Leptospira* Exposure in Outdoor Cats. Trop Med Infect Dis. 2023 10;8(1):54. doi: https://doi.org/10.3390/tropicalmed8010054 PMID: 36668961

Uncorrected Proof

DOI: 10.22059/jvr.2023.362636.3367

11. Alashraf AR, Lau SF, Khairani-Bejo S, Khor KH, Ajat M, Radzi R, Roslan MA, Abdul Rahman MS. First report of pathogenic *Leptospira spp.* isolated from urine and kidneys of naturally infected cats. PLoS One. 2020 10;15(3):e0230048. doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230048 PMID: 32155209

12. Sykes JE, Hartmann K, Lunn KF, Moore GE, Stoddard RA, Goldstein RE. 2010 ACVIM small animal consensus statement on leptospirosis: diagnosis, epidemiology, treatment, and prevention. J Vet Intern Med. 2011 ;25(1):1-3. doi: https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0654.x PMID: 21155890

13. Prescott JF, McEwen B, Taylor J, Woods JP, Abrams-Ogg A, Wilcock B. Resurgence of leptospirosis in dogs in Ontario: recent findings. Can vet j. 2002 ;43(12):955. PMID: 12561690

14. Bourassi E, Savidge C, Foley P, Hartwig S. Serologic and urinary survey of exposure to *Leptospira species* in a feral cat population of Prince Edward Island, Canada. J Feline Med Surg. 2021 ;23(12):1155-61. doi: https://doi.org/10.1177/1098612X211001042 PMID: 33719673

15. Jamshidi S, Akhavizadegan MA, Bokaei S, Maazi N, Ghorbanali A. Serologic study of feline leptospirosis in Tehran, Iran. doi: https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103833 PMID: 31698052

16. Garoussi MT, Mehravaran M, Abdollahpour G, Khoshnegah J. Seroprevalence of leptospiral infection in feline population in urban and dairy cattle herds in Mashhad, Iran. Vet Res Fprum. 2015 (Vol. 6, No. 4, p. 301). Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. PMID: 26973765

17. Rodriguez J, Blais MC, Lapointe C, Arsenault J, Carioto L, Harel J. Serologic and urinary PCR survey of leptospirosis in healthy cats and in cats with kidney disease. J Vet Intern Med. 2014 ;28(2):284-93. doi: https://doi.org/10.1111/jvim.12287 PMID: 24417764

18. Alashraf AR, Lau SF, Khairani-Bejo S, Khor KH, Ajat M, Radzi R, Roslan MA, Abdul Rahman MS. First report of pathogenic *Leptospira spp*. isolated from urine and kidneys of naturally infected cats. PLoS One. 2020 10;15(3):e0230048. doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230048 PMID: 32155209

19. Murillo A, Goris M, Ahmed A, Cuenca R, Pastor J. Leptospirosis in cats: Current literature review to guide diagnosis and management. J Feline Med Surg. 2020 ;22(3):216-28. doi: https://doi.org/10.1177/1098612X20903601 PMID: 32093581

جدول ۱. پرایمرهای مخصوص ژن استفاده شده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز.

باکتری	نوع پرایمر	توالی پرایمر	طول باند
لپتوسپیرا	پرایمر F	۵′-GGCGGCGCGTCTTAAACATG-۳′	۵۲۵
	پرایمر R	۵′-TTCCCCCCATTGAGCAAGATT-۳′	

Unedited Proof

Online ISSN: 2251-6190 **Journal of Veterinary Research** *Original Article*

DOI: 10.22059/jvr.2023.362636.3367

جدول ۲. مقایسه میانگین ± خطای استاندارد مقادیر هماتولوژی و بیوشیمیایی در گربه‌های مبتلا و غیر مبتلا به *لپتوسپیرا*.

	آلودگی با لپتوسپیرا	میانگین خطای	استاندارد	*P* Value
لکوسیت	منفی	۱۰/۴۵۱۹	۰/۷۴۹۳۴	۰/۵۲
	مثبت	۱۱/۵۴۱۷	۱/۴۴۳۶۱	
هماتوکریت	منفی	۳۶/۵۲۵۰	۱/۱۴۷۹۳	۰/۰۴
	مثبت	۳۰/۷۳۳۳	۲/۳۳۹۱۴	
اریتروسیت	منفی	۷/۶۶۷۳	۰/۲۴۲۸۱	۰/۰۵
	مثبت	۶/۵۵۰۰	۰/۵۳۹۴۳	
هموگلوبین	منفی	۱۱/۳۴۶۲	۰/۳۵۹۴۱	۰/۰۸
	مثبت	۹/۸۸۳۳	۰/۸۰۳۵۷	
اوره	منفی	۲۷/۰۹۶۲	۲/۰۴۳۳۲	۰/۰۰۱
	مثبت	۵۲/۰۸۳۳	۱۱/۴۸۴۱۵	
کراتیتین	منفی	۱/۲۴۰۴	۰/۰۹۲۰۰	۰/۰۰۲
	مثبت	۲/۰۵۰۰	۰/۳۳۲۴۶	
نسبت پروتئین به کراتینین ادرار	منفی	۰/۱۸۰۰	۰/۰۱۳۶۳	۰/۰۸
	مثبت	۰/۲۵۷۵	۰/۰۷۱۳۵	
وزن مخصوص ادرار	منفی	۱/۰۳۳۳۲۷	۰/۰۰۱۰۸۵۶	۰/۱۵
	مثبت	۱/۰۲۷۵۸۳	۰/۰۰۳۶۴۲۰	

جدول ۳. نتایج آگلوتیناسیون میکروسکوپی در گربه‌های مبتلا به *لپتوسپیرا*.

تعداد گربه‌ها با تیتر مشابه	سروار			
	کانی‌کولا	*پومونا*	*گریپوتیفوزا*	*بالوم*
۳	۱:۱۰۰			
۲	۱:۴۰۰			
۱	۱:۸۰۰			
۱		۱:۲۰۰		
۱			۱:۲۰۰	
۲				۱:۱۰۰
۱				۱:۲۰۰
۱				۱:۴۰۰

Uncorrected Proof