

Sero-Epidemiological Study of Leptospirosis in Healthy People in Qaemshahr, Iran, 2015

Ahmad Alikhani¹,
Farhang Babamahmoodi²,
Shahriar Alian³,
Fatemeh Zameni⁴,
Alireza Ghorbani⁵,
Arman Shojaefar⁶

¹ Assistant Professor, Department of Infectious Diseases, Antimicrobial Resistance Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Professor, Department of Infectious Diseases, Antimicrobial Resistance Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Associate Professor, Department of Infectious Diseases, Antimicrobial Resistance Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Resident in Infectious Diseases, Antimicrobial Resistance Research Center, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵ General Practitioner, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁶ MSc in Laboratory Sciences, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received January 3, 2016 ; Accepted July 28, 2016)

Abstract

Background and purpose: Human leptospirosis is prevalent and endemic in north of Iran, especially in Guilan and Mazandaran provinces as temperate regions. The purpose of this study was to survey the epidemiologic and sero-prevalence nature of leptospirosis in healthy people in Mazandaran province.

Materials and methods: A cross sectional study was carried out in three rural regions in Ghaemshahr, Iran, 2015. The participants included 272 paddy field workers who were selected via convenience sampling. Demographic information was recorded and serum samples were tested for anti-leptospiral IgG antibodies.

Results: The subjects were 184 (67.5%) males and 88 (32.5%) females. There were 265 (98.1%) farmers and 284 (93.4%) worked in paddy fields. Positive anti-Leptospira IgG (> 0.3) was observed in 49 cases (18%). Significant association was found between working in paddy fields and serology test results ($P=0.043$). But there was no significant relation between age, gender and exposure to animal and positive serology ($P=0.699$, $P=0.32$, $P=0.092$, respectively).

Conclusion: High sero-positivity, high number of people working in paddy fields and ecologic conditions of the province calls for appropriate training programs for farm workers such as wearing standard shoe covers in the hope that leptospirosis is controlled.

Keywords: leptospirosis, epidemiology, serology

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26(140): 78-84 (Persian).

بررسی سرو اپیدمیولوژیک لپتوسپیروزیس در افراد سالم شهرستان قائم شهر سال ۱۳۹۴

احمد علیخانی^۱
فرهنگ بابامحمودی^۲
شهریار عالیان^۳
فاطمه ضامنی^۴
علیرضا قربانی^۵
آرمان شجاعی^۶

چکیده

سابقه و هدف: لپتوسپیروزیس انسانی در حاشیه ساحلی دریای خزر به ویژه در استان مازندران و گیلان که آب و هوای معتدل و مرطوب و شرایط اکولوژیکی مناسب برای شیوع آن دارند، شایع و آندمیک است. این مطالعه با هدف بررسی ویژگی های اپیدمیولوژیک و سرولوژیک لپتوسپیروزیس در منطقه ای از شمال کشور در استان مازندران انجام شده است.

مواد و روش ها: این مطالعه مقطعی در تابستان سال ۱۳۹۴ با روش نمونه گیری در دسترس روی ۲۷۲ فرد شالیکار سالم ا سه روستای قراخیل، قاسم خیل و ارطه از توابع شهرستان قائم شهر که در ریسک کسب عفونت بودند، انجام شد. پس از ثبت اطلاعات اولیه دموگرافیک، سرم افراد با آزمون الیزا برای سنجش مقدار IgG مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: ۲۷۲ نفر از شالیکاران مناطق ذکر شده با میانگین سنی ۴۲/۳ سال شامل ۱۸۴ مرد (۶۷/۵ درصد) و ۸۸ زن (۳۲/۵ درصد) مورد بررسی قرار گرفتند. ۲۶۵ نفر (۹۸/۱ درصد) از آن ها کشاورز بودند. محل فعالیت ۲۵۴ نفر (۹۳/۴ درصد) از آن ها در شالیزار بود. ۴۹ نفر (۱۸ درصد) از افراد تست IgG مثبت (بیش تر از ۰/۳) داشتند. بر خلاف سابقه کار در شالیزار ($p=0/043$)، رابطه معنی داری بین جنسیت، سن و سابقه تماس با دام با نتایج آزمون های سرولوژیک مشاهده نشد (به ترتیب $p=0/092$, $p=0/32$, $p=0/699$).

استنتاج: با توجه به درصد قابل توجه سرولوژی مثبت از نظر لپتوسپیروزیس و اشتغال درصد بالایی از جمعیت منطقه به امر شالیکاری و وضعیت اکولوژیکی استان، اتخاذ رفتار زراعی مناسب به منظور کاهش تماس مستقیم پوست از جمله پوشش مناسب پا می تواند نقش مهمی در جهت کنترل بیماری داشته باشد.

واژه های کلیدی: لپتوسپیروزیس، اپیدمیولوژی، سرولوژی

مقدمه

لپتوسپیروزیس یکی از شایع ترین بیماری های مشترک انسان- حیوان با بیش ترین پراکندگی در جهان است و در مناطق معتدل شایع و آندمیک می باشد (۱، ۲). لپتوسپیروهای پاتوژن در اکثر حیوانات و جوندگان یافت

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۸۸۲ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.

E-mail: pzameni3@yahoo.com

مؤلف مسئول: فاطمه ضامنی - قانمشهر: دستیار دانشکده پزشکی، بیمارستان رازی قانمشهر

۱. استادیار، گروه بیماری های عفونی، مرکز تحقیقات مقاومت ضد میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. استاد، گروه عفونی، مرکز تحقیقات مقاومت های میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. دانشیار، گروه بیماری های عفونی و گرمسیری، مرکز تحقیقات مقاومت های میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. دستیار بیماری های عفونی و گرمسیری، مرکز تحقیقات مقاومت های میکروبی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵. پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۶. کارشناس ارشد علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۱۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۱۰/۱۴ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۴/۲۸

می‌شود. حیوانات نیز به این بیماری مبتلا می‌شوند منتهی ممکن است برای سال‌ها عامل را از طریق ادرار خود دفع کرده و باعث آلودگی محیط و آب‌های سطحی شوند که از این طریق انسان در صورت داشتن جراحت در پوست آلوده می‌شود (۴،۳). لپتوسپیراها باکتری‌های اسپیروکتی هستند که می‌توانند بیش از ۱۶۰ گونه پستاندار اهلی و وحشی را آلوده نمایند. نحوه انتقال تماس مستقیم مخاط، پوست یا ادرار، بافت آلوده حیوان یا تماس و نوشیدن آب آلوده می‌باشد. باکتری می‌تواند سال‌ها در توبول‌های کلیه زنده بماند و از طریق ادرار دفع شود. هم‌چنین می‌تواند ماه‌ها در آب زنده بماند (۵،۴). علی‌رغم انتشار جهانی آن متأسفانه در کشور ایران برخی از موارد عفونت لپتوسپیروزیس تشخیص داده نمی‌شود (۶). لپتوسپیروزیس یک بیماری شایع است که معمولاً کم تخمین زده می‌شود و بروز واقعی آن نا معلوم است و با اطمینان می‌توان گفت که بروز واقعی آن بسیار بالاتر از تعداد مواردی است که تخمین زده می‌شود. نقاط آندمیک اغلب در نواحی گرمسیری، نیمه گرمسیری و معتدله قرار دارند که الگوی شیوع بیماری در آن‌ها متفاوت است. بروز لپتوسپیروزیس در نواحی نیمه گرمسیری و معتدله شیوع فصلی دارد و در ماه‌های گرم بیش‌تر بروز می‌کند (۸،۷،۴). علائم بالینی این عفونت در ۹۰ درصد موارد غیر اختصاصی و به شکل آنفلوآنزا بروز می‌کند. علائم عمومی به شکل تب، سردرد، میالژی، بدحالی، درد پشت و شکم و در بسیاری موارد کترنکتیویت می‌باشد. اما در مواردی با گرفتاری کبدی که به نام سندرم ویلز (Weil's syndrome) نامیده می‌شود تظاهر می‌یابد (۷،۴،۲). به علت غیر اختصاصی بودن علائم بالینی این عفونت با بیماری‌های دیگر اشتباه می‌شود و یا قبل از تشخیص دقیق با آنتی‌بیوتیک به طور اتفاقی درمان می‌شود (۷). این بیماری یک عفونت شناخته شده زئونوز و شغلی در استان مازندران بوده (۲۱) و از معمول‌ترین روش‌های تشخیص آن استفاده از سرولوژی به شکل الیزا و تست ایمونوفلورسنت می‌باشد (۲۱،۶). اصولاً برای

هر بیماری شایع و آندمیک، شناخت میزان بروز و شیوع آن و هم‌چنین آگاهی از چهره اپیدمیولوژیکی بیماری که با بررسی ویژگی‌های دموگرافیکی بیماران نیز امکان‌پذیر است و نیز تعیین شایع‌ترین اشکال تظاهر بالینی آن مفید می‌باشد و از طرفی کمک می‌کند که به مخزن یا مخازن بیماری پی‌برده و راه مناسب و موثرتری برای کنترل آن تدبیر نمود (۹). در کشورهای پیشرفته لپتوسپیروزیس به صورت تک‌گیر اتفاق می‌افتد و بیش‌تر موارد با قایقرانی تفریحی، شنا در آب‌های رودخانه‌ای و شکار در ارتباط بوده‌اند (۷،۴). افزون بر این موارد عفونت در کارگران معدن، فاضلاب و ماهی‌گیران نیز گزارش شده است (۱۶،۴). حاشیه دریای خزر به عنوان یک منطقه معتدل، محیط مناسب برای رشد لپتوسپیرو می‌باشد. از طرفی کشت برنج به عنوان یک اشتغال شایع و زندگی در نزدیکی دام شرایط مناسبی را برای مواجهه با این ارگانیسم برای انسان ایجاد می‌نماید (۱۱،۱۰).

در مطالعه هنرمند و همکاران در گیلان هم بیان شد که لپتوسپیروز یک بیماری شغلی است و کشاورزی یک عامل خطر محسوب می‌شود (۱۵).

مطالعه Najera و همکاران در کلمبیا که در آن سرولوژی ۳۳۴ نفر با شغل‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت، نشان داد که کشاورز بودن یک عامل خطر قوی است (۱۸). این مطالعه با هدف بررسی ویژگی‌های اپیدمیولوژیک و سرولوژیک لپتوسپیروزیس در شهرستان قائم شهر از استان مازندران انجام شده است.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر یک مطالعه مقطعی بوده که در تابستان سال ۱۳۹۴ در سه روستای قراخیل، قاسم خیل و ارطه از توابع شهرستان قائم شهر به عنوان مناطق آندمیک انجام شد. افراد بالای ۱۸ سال، افراد سالم از نظر بیماری جسمی، ساکنین دائمی این مناطق و افرادی که رضایت به همکاری داشتند، وارد مطالعه شدند. همه افرادی که ساکن مناطق آندمیک نبودند و به صورت کوتاه مدت

از همه افراد تیترا لیزای IgG گرفته شد. در ۴۹ نفر (۱۸ درصد) تست IgG ضد لپتوسپیرا مثبت شد.

جدول شماره ۱: اطلاعات اپیدمیولوژیک و جغرافیایی افراد شرکت کننده در مطالعه

اطلاعات	بله تعداد(درصد)	خیر تعداد(درصد)
آیا خانه نمور است	۳۶ (۱۳/۳)	۲۳۵ (۸۶/۷)
آیا یکماه قبل سیلی در محل رخ داد	۲۷۲ (۱۰۰)	۰
آیا موش در منطقه زیاد است	۱۰۶ (۳۹/۱)	۱۶۵ (۶۰/۹)
آیا در منزل دام نگهداری می شود	۶۸ (۲۵/۱)	۲۰۳ (۷۴/۹)
آیا با محیط مرطوب سروکار دارد	۲۷۲ (۱۰۰)	۰
آیا دامدار است	۶۸ (۲۵/۱)	۲۰۳ (۷۴/۹)
تماس با حیوانات	۷۹ (۲۹/۳)	۱۹۱ (۷۰/۷)
تماس با منابع آب طبیعی	۱۹۷ (۷۲/۷)	۷۴ (۲۷/۳)
سابقه شتا در منابع آب طبیعی	۵ (۱/۹)	۲۶۶ (۹۸/۱)
سابقه تماس با آب راکد	۱۷۲ (۶۳/۷)	۹۹ (۳۶/۳)

۳۲ نفر (۱۷/۴ درصد) از مردان و ۱۷ نفر (۱۹/۳ درصد) از زنان، IgG مثبت داشتند که تفاوت دو گروه معنی دار نبود ($p=0/699$)، هم چنین میانگین سن در افراد IgG مثبت، $48/81 \pm 11/93$ سال و در افراد IgG منفی $47/14 \pm 10/33$ سال بود که تفاوت دو گروه معنی دار نبود ($p=0/320$). در این مطالعه ۴۰ درصد افرادی که سابقه کار در شالیزار با دست و پای برهنه و یا سابقه عبور از مزرعه برنج با پای برهنه را داشتند، IgG مثبت داشتند. سایر اطلاعات در جدول شماره ۲ آورده شده است.

جدول شماره ۲: مقایسه اطلاعات اپیدمیولوژیک و جغرافیایی افراد IgG مثبت

IgG مثبت	سطح معنی داری
تعداد	
۷	۰/۰۸۶
۴۲	
۲۳	۰/۲۵۲
۲۶	
۸	۰/۰۹۲
۴۱	
۳۷	۰/۶۳۷
۱۲	
۳	۰/۰۱۶
۴۶	

بحث

مطالعه حاضر روی افراد ساکن منطقه اندمیک

در این مناطق اقامت داشتند، در زمان نمونه گیری علامتی از یک بیماری را دارا بودند، تست الیزای مثبت قبل از ورود به شالیزار در این فصل داشتند و رضایت به انجام مطالعه نداشتند وارد تحقیق نشدند. نمونه گیری به صورت در دسترس انجام گرفت. پس از ورود افراد به مطالعه و ثبت رضایت نامه، اطلاعات اولیه و دموگرافیک افراد در پرسشنامه ای که از قبل آماده شده بود، ثبت گردید و سپس نمونه گیری انجام شد. با توجه به نوع مطالعه و با استفاده از t Test و power ۸۰ درصد حجم نمونه محاسبه شد. از تمامی افراد مقدار ۵ میلی لیتر خون وریدی گرفته شد و پس از سانتریفیوژ، سرم آن ها جدا شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان آزمایش نگهداری گردید. سرم های جمع آوری شده با آزمون الیزا (با حساسیت بالای ۷۵ درصد) (۲۰) برای سنجش مقدار IgG توسط کیت شرکت آمریکائی DRG بین المللی مورد بررسی قرار گرفتند. تمام مراحل آزمون طبق دستورات کارخانه سازنده انجام شد و بر اساس توصیه کمپانی و پس از ثبت OD (۰/۳ تا ۰/۳ منفی، ۰/۳ تا ۱ مثبت ضعیف و بیش تر از یک مثبت در نظر گرفته شد)، با رجوع به فرمول ذکر شده و با استفاده از منحنی استاندارد موجود در کیت، تراز آنتی بادی هر نمونه محاسبه شد. تمام نتایج توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ و آزمون مربع کای با سطح معنی داری کم تر از ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها

در نهایت ۲۷۲ نفر از افراد بالای ۱۸ سال که میانگین سنی آن ها ۴۲/۳ سال بود شامل ۱۸۴ مرد (۶۷/۵ درصد) و ۸۸ زن (۳۲/۵ درصد) مورد بررسی قرار گرفتند. ۲۶۵ نفر (۹۸/۱ درصد) از آن ها کشاورز بودند. محل فعالیت ۲۵۴ نفر (۹۳/۴ درصد) از آن ها در شالیزار بود. هم چنین موقعیت زندگی ۲۵۴ نفر (۹۳/۴ درصد) در دشت و ۱۶ نفر از آن ها (۵/۹ درصد) در اطراف شالیزار بود. سایر اطلاعات در جدول شماره ۱ آورده شده است.

انجام شده است که در زمان انجام مطالعه هیچ علامتی نداشتند. ۱۸ درصد از افراد شرکت کننده در مطالعه حاضر IgG مثبت از نظر لپتوسپیروزیس داشتند. این موضوع بیان گر این است که مواجهه با لپتوسپیرا به واسطه کار در شالیزار وجود داشته و اقدامات حداقلی که کشاورزان به منظور محافظت از خود به کار می‌برند توانسته میزان سرولوژی مثبت را در مقایسه با دیگر مطالعات بکاهد ولی کاملاً موثر نبوده است چرا که استفاده از روش‌های سنتی نمی‌تواند جلوی آسیب پوستی و در نتیجه نفوذ لپتوسپیرا را به‌طور کامل بگیرد که در این بین پوشیدن چکمه ($p < 0/0001$) و شستشوی پاها ($p < 0/001$) پس از اتمام کار از همه موثرتر بوده است. البته روند آنتی بادی‌های IgG لپتوسپیروزیس بسیار گوناگون است یعنی این که این آنتی‌بادی‌ها ممکن است بعضی مواقع اصلاً دیده نشوند یا برای زمان کوتاهی باشند و یا ممکن است برای سال‌ها پابرجا بمانند. با این حال پس از ۵ روز از ابتلا به بیماری قابل شناسایی است (۱۲).

در مطالعه وحدت و همکاران در بوشهر، فراوانی IgM و IgG به ترتیب ۲۹/۳ و ۱۵/۵ درصد بود (۱۳). در مطالعه طالعی و همکاران در لرستان نیز ۴۸/۸ درصد شالیکاران آنتی‌بادی IgG و ۳۸/۷ درصد IgM ضد لپتوسپیرا داشتند که البته در این مطالعه افراد مشکوک به بیماری مورد بررسی قرار گرفته بودند (۱۴). در مطالعه هنرمند و همکاران در گیلان هم که روی افراد مشکوک انجام شده بود، ۵۹ درصد IgM مثبت داشتند (۱۵). در مطالعه طالعی (۱۴) و هنرمند و همکاران (۱۵) احتمالاً علت درصد بالای سروپوزیتیویتی ناشی از این است که نمونه‌ها از افراد بیمار مشکوک به تب شالیزار گرفته شده بود. در مطالعه حاضر که ۱۸ درصد سرولوژی مثبت داشتند، ۹۸ درصد کشاورز بودند و ۹۳ درصد از آن‌ها در شالیزار فعالیت داشتند. هم‌چنین همه افرادی که IgG مثبت داشتند، کشاورز بودند.

Natarajaseenivasan و همکاران در ایالت Tami مرکزی کشور هند، شیوع لپتوسپیروز را در کارگران

مزارع برنج با روش IgM-ELISA بررسی نمودند و این مطالعه را برای جوندگان و سایر حیوانات بومی منطقه بسط دادند. شیوع سرمی لپتوسپیروز در افراد مزبور ۶۸/۳ درصد برآورد شد که با گروه کنترل (مشاغل دیگر) تفاوت معنی‌داری داشت. در مطالعه ذکر شده عواملی از قبیل جمعیت بالای جوندگان، رطوبت بالا، تماس نزدیک و دائمی انسان با حیوانات و کار کردن بدون حفاظ از مهم رین عوامل خطر ساز و مستعد کننده اعلام گردید (۱۷). شایان ذکر است که فقط بعضی از انواع زراعت‌ها به ویژه شالیکاری که به آبیاری دائمی نیاز دارد و احتمال تماس با آب‌های سطحی را زیاده‌تر می‌کند، می‌توانند جزء عوامل خطر ساز محسوب شوند. در یک مطالعه در استان گیلان نشان داده شد که مناطقی وجود دارد (نواحی کوهستانی) که زراعت گندم و حبوبات آن هم با روش آبیاری دیمی رواج دارد و با وجود رواج شدید دامداری و بالا بودن میزان تماس با حیوانات، بروز لپتوسپیروز ناچیز است (۱۹).

در مطالعه حاضر ۴۰ درصد افرادی که سابقه کار در شالیزار با دست و پای برهنه و یا سابقه عبور از مزرعه برنج با پای برهنه را داشتند، IgG مثبت بودند. در مطالعه هنرمند و همکاران در گیلان بین نداشتن پوشش برای پا در حین شالیکاری و ابتلا به لپتوسپیروز رابطه معنادار مشاهده شد (۱۵) که از این نظر با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد.

در یک مطالعه مقطعی در مالزی که روی افراد سالم ساکن در منطقه اندمیک انجام گردید که از این نظر مشابه مطالعه حاضر می‌باشد ۳۵/۹ درصد نمونه‌ها سرولوژی مثبت داشتند و حضور جوندگان یک ریسک فاکتور قوی برای کسب این بیماری محسوب شد (۲۲) که میزان سرولوژی مثبت در مقایسه با مطالعه حاضر بیش‌تر بود منتهی حضور جوندگان و حیوانات وحشی در نزدیکی انسان مشابه شرایط منطقه مورد مطالعه حاضر بوده است. در مطالعه حاضر رابطه‌ای بین تماس با حیوانات یا نگهداری دام در منزل و مثبت شدن تست‌های سرولوژی دیده نشد. این موضوع را می‌توان ناشی از افزایش

است. کی از محدودیت‌های مطالعه حاضر عدم بررسی شیوع سرمی در حیوانات منطقه بود منتهی با توجه به دیگر مطالعات موجود (۱۳۸) حضور دام، جوندگان و حیوانات وحشی و سرولوژی مثبت به میزان بالا در آن‌ها ارتباط مستقیم با کسب بیماری را خبر می دهد. در پایان می توان نتیجه گیری کرد که اشتغال در شالیکاری ارتباط مستقیم با کسب این بیماری داشته و ترویج رفتار زراعی و دامپروری مناسب با اتخاذ روش‌هایی که کم‌ترین مواجهه با آب‌های سطحی در کار باشد از جمله استفاده از محافظ پا و جوراب مخصوص می‌تواند در جهت کنترل بیماری نقش به سزایی داشته باشد.

سپاسگزاری

این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران به شماره ۸۸۲ می‌باشد.

References

1. Picardeau M. Leptospirosis: Updating the Global Picture of an Emerging Neglected Disease. *PLoS Negl Trop Dis* 2015; 9(9): e0004039.
2. Picardeau M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Med Mal Infect* 2013; 43(1): 1-9.
3. Hartskeerl R, CollaresPereira M, Ellis W. Emergence, control and reemerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17(4): 494-501.
4. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 8thed. Canada: Elsevier Health Sciences; 2014.
5. Brooks G, Carroll KC, Butel J, Morse S Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology. 26th ed. New York City: McGraw-Hill; 2013.
6. Mansour-Ghanaei F, Sarshad A, Fallah M-S, Pourhabibi A, Pourhabibi K, Yousefi-Mashhoor M. Leptospirosis in Guilan, a northern province of Iran: assessment of the clinical presentation of 74 cases. *Med Sci Monit* 2005; 11(5): CR219-CR223.
7. Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J, Loscalzo J. Harrison's Principles of Internal Medicine. 19th ed. New York: McGraw Hill; 2015.
8. Osterholm M, HedbergCH. Epidemiologic Principles In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of infectious diseases. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, (eds). 8th ed. Philadelphia: Cherrchill Livingstone; 2015. p. 179-193.
9. Esmaeili R, Hesamzadeh A, Alizadeh-Navaei R, Haghshenas M, Alhani F. Incidence of leptospirosis in Mazandaran Province, north

- of Iran: a one year survey. Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS 2009; 12(19): 1330-1333.
10. Aliyan S, Babamahmoudi F, Najafi N, Qasemian R, Teymouri S, Shahbaznezhad L. Clinical and para clinical findings of leptospirosis in Mazandaran, June-September 2004. J Mazandaran Univ Med Sci 2006; 16(53): 78-85 (Persian).
 11. Yang B, de Vries SG, Visser BJ, Nagel IM, GA Goris M, Leeflang MM, et al. Molecular and antigen detection tests for leptospirosis. Cochrane database of systematic reviews (Online). 2015.
 12. Vahdat K, Nabipour I, Motamedi M, Jafary SM, Ghajari A, Zafarmand MH, et al. A sero-epidemiological survey on leptospirosis in the livestock breeders during the outbreak of haemorrhagic fever in domestic animals of the Helleh River area in 2004. ISMJ. 2005; 8(1): 53-59 (Persian).
 13. Talei G, Sheikhian A, Mousavi SA. Seroprevalance of leptospirosis in patients with fever visited Vaysian Health Center, Khoramabad, summer 1996. Yafteh 1997; 9(3): 3-9 (Persian).
 14. Honarmand H, Rasaei H, Rezvani M, Hosseini S, Rahbar M. Ten years leptospirosis incidence in Guilan province from 1999 to 2009. Iranian Journal of Infectious Diseases 2010; 14(47): 47-53 (Persian).
 15. Plank R, Dean D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. in humans. Microbes Infect 2000; 2(10): 1265-1276.
 16. Natarajaseenivasan K, Boopalan M, Selvanayagi K, Suresh SR, Ratnam S. Leptospirosis among rice mill workers of Salem, South India. Jpn J Infect Dis 2002; 55(5): 170-173.
 17. Nájera S, Alvis N, Babilonia D, Alvarez L, Máttar S. Occupational leptospirosis in a Colombian Caribbean area. Salud Publica Mex 2005; 47(3): 240-244.
 18. Honarmand H, Mansour GF, Eshraghi S, Khoramizadeh MR, ABD EGR. The epidemiology of leptospirosis in Guilan province-2003. Iranian Journal of Infectious Diseases 2005; 13(42): 53-56 (Persian).
 19. Adler B, de la Peña Moctezuma A. *Leptospira* and leptospirosis. Vet Microbiol 2010; 140(3): 287-296.
 20. Faraji H, Mirzaei H, Afshar D, Nouri P, Roshanjo K, Mohamadi Bardebari A Mirzaei HR. The Epidemiology of *Leptospira* Infection in Mazandaran Province, Northern Iran, During 2012-2013. Iran Red Crescent Med J (In press): e23194, epub: 2016. (Persian).
 21. Swapna RN, Tuteja U, Nair L, Sudarsana J. Seroprevalence of leptospirosis in high risk groups in Calicut, North Kerala, India. Indian J Med Microbiol 2006; 24(4): 349-352.
 22. Thayaparan S, Robertson ID, Fairuz A, Suut L, Gunasekera UC, Abdullah MT. Seroepidemiological study of leptospirosis among the communities living in periurban areas of Sarawak, Malaysia. Med J Malaysia 2015; 70(5): 288-294.