مطالعه شیوع سرمی لیشمانیوز احشائی در سگ‌سانان وحشی منطقه سراب (استان آذربایجان شرقی) در سال ۸۹-۸۸

مجید خانمحمدی[1*]، اسماعیل فلاح[2]، صادق رهبری[3]، سعید حصارکی[4]

۱. گروه علوم آزمایشگاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرند، ،مرند، ایران
۲. گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۳. گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
٤. گروه پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحدعلوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران
* نویسنده مسئول مکاتبات: mkh593@marandiau.ac.ir

(دریافت مقاله: ۸۹/۸/۱۵، پذیرش نهایی: ۹۰/۲/۱۵)

چکیده

این تحقیق جهت بررسی سرمی شیوع لیشمانیوز احشائی زئونوتیک (ZVL) در میان سگ‌سانان اطراف شهرستان سراب و بررسی احتمال وجود ارتباط بین سگ‌سانان آلوده در انتقال انگل به انسان در سال ۸۹-۸۸ انجام گردید. در این مطالعه جمعاً ۱۰ نمونه سرم روباه و ۲ نمونه سرم گرگ تهیه شد و نمونه‌ها در آزمایشگاه تک‌یاخته شناسی دانشکده بهداشت و تغذیه دانشگاه علوم پزشکی تبریز با استفاده از تست‌های سرولوژیکی Elisa وIFA مورد آزمایش قرار گرفتند. در نتیجه این بررسی، ۱ روباه از ۱۰ روباه شکار شده با تست‌های IFA و ELISA به صورت سرم مثبت گزارش گردید. میزان تیتر IFA بزرگتر یا مساوی ۱:۱۲۸۰ و میزان جذب نوری در ELISA برابر با ۲/۱۲۷ (۱۳۸٪= درصد نمونه(S/P٪)) بود، روباه مذکور دارای علایم مشخص بیماری شامل ضایعات جلدی، ریزش مو، لاغری، بزرگی و پیچیدگی ناخن‌ها، هپاتواسپلینومگالی بود. در لام‌های گسترش تماسی تهیه شده از کبد و طحال این روباه، جسم لیشمن مشاهده و نتیجه کشت هم مثبت بود. در این مطالعه از ۲ گرگ شکار شده هیچ کدام به صورت سرم مثبت گزارش نگردید و نتایج کشت هم منفی بود. انگل‌های ایزوله شده از روباه سرم مثبت با استفاده از پرایمرهای اختصاصی k-DNA آزمایش PCR شد و نمونه مربوط به انگل جدا شده از روباه آلوده به طور اختصاصی دارای ۹۹٪ همولوژی با Donovani complex (*L.infantum ,L.donovani, L.Chagasi*) بود.

مجله علوم تشخیصی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳۸۹، دوره ٤، شماره ٤، پیاپی ١٦، صفحات: ۱۰۰۵-۹۹۷.

کلید واژه‌ها: لیشمانیوز احشائی، الیزا، ایمونو فلورسانس غیرمستقیم، روباه، سراب

مقدمه

سازمان بهداشت جهانی WHO عفونت ناشی از *L.infantum* را به‌عنوان یکی از ٦ بیماری عفونی مهم انسان در دنیا اعلام نموده است. اگرچه در سال‌های اخیر میزان توجه به لیشمانیوز به عنوان یک مشکل بهداشت عمومی افزایش یافته، ولی اقدامات موجود برای کنترل این بیماری هنوز کافی به نظر نمی‌رسند. تنوع زیادی که در اشکال بالینی و موقعیت‌های اپیدمیولوژیک بیماری وجود دارد، نشان دهنده این است که هر کانونی به اصول و روش‌های کنترلی خاص خود نیاز دارد

Archive of SID
www.SID.ir

(٣٣). علی رغم این اهمیت، بیماری اغلب در مناطق کمتر رشد یافته کشورهای در حال توسعه و در برخی از کشورهای مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر دنیا شیوع داشته و موارد ابتلای سالانه آن بیش از نیم میلیون نفر می‌باشد (١١ و ٣٤). لیشمانیوز احشائی یکی از بیماری‌های عفونی–انگلی سیستمیک زئونوتیک (ZVL) شایع می‌باشد، که به‌عنوان یک مشکل بهداشتی در برخی از کشورهای مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر مطرح می‌باشد (٢١ و ٢٩). لیشمانیوز احشائی جزء بیماری‌های اندمیک ایران و بیش از ٨٠ کشور جهان محسوب می‌شود و همه ساله نزدیک به ٥٠٠٠٠٠ مورد جدید لیشمانیوز احشائی در سال از نقاط مختلف جهان گزارش می‌شود (٣، ١٢ و ١٧). لیشمانیوز احشائی در کشورهای خاورمیانه گسترش زیادی دارد. عامل لیشمانیوز احشائی در ایران *لیشمانیا اینفانتوم* نوع مدیترانه‌ای می‌باشد. سگ‌ها (*Canis Familaris*) به‌عنوان میزبان اهلی و شغال‌ها (*Canis aureus*) ، روباه‌ها (*Vulpes vulpes*) و گرگ‌ها (*Canis lupus*) به‌عنوان میزبانان وحشی، اصلی‌ترین مخزن CVL هستند (٣، ٥ و ٢٠). *لیشمانیا اینفانتوم* توسط پشه خاکی‌های خانواده *سیکودیده* (*Psychodidae*) منتقل می‌شود. پشه‌های خاکی ناقل لیشمانیا به انسان و پستانداران حساس بیشتر متعلق به جنس‌های فلبتوموس (*Phlebotomus*) و لوتزومیا (*Lutzoumyia*) بوده و انگل را بین مخازن حیوانی و انسان انتقال می‌دهند (٤، ١٩ و ٢٠). سگ‌های بدون علامت مهم‌ترین منبع برای پشه خاکی‌های ناقل جهت انتقال انگل به انسان‌ها می‌باشند (٢٠). تاکنون حداقل چهار کانون اندمیک این بیماری در مناطقی از استان‌های اردبیل شهرستان‌های مشکین شهر و مغان (گرمی، پارس‌آباد و بیله سوار)، آذربایجان شرقی (کلیبر، اهر و آذرشهر)، فارس(جهرم، قیر و کازرون)، سمنان، بوشهر و قم (١٣) و کرمان و کرج مورد مطالعه و تأیید قرار گرفته‌اند، و هر ساله موارد تک گیر لیشمانیوز احشائی از سایر نقاط ایران گزارش می‌گردد. در کانون‌های اردبیل و آذربایجان شرقی انگل لیشمانیای جدا شده از مخازن حیوانی، بعد از آزمایشات بیوشیمیائی (ایزو آنزیم)، از نوع انگل *لیشمانیا اینفانتوم* LON49 تعیین گردید، این انگل دقیقاً همان سویه‌ای است که در موارد زیادی از افراد مبتلا به کالاآزار در استان‌های یاد شده جدا شده است، بنابراین، به‌طور قطعی می‌توان گفت سگ‌سانان مبتلا به لیشمانیوز احشائی مهم‌ترین مخازن حیوانی این عفونت برای انسان محسوب می‌شوند (٢، ٢٠ و ٣٢). استفاده از روش‌های سرولوژی معتبر در شناسائی به موقع این عفونت در مخازن اهمیت فراوانی دارد. تعدادی از تست‌ها بر پایه ارزیابی آنتی‌بادی‌های ضد لیشمانیا تهیه شده است، روش IFAو ELISA یکی از بهترین روش‌های سرولوژیکی می‌باشند که حساسیت و ویژگی بالائی برای آن گزارش شده است (٣ و ٢٠). با توجه به شرایط اکولوژیک شهرستان سراب هدف از این تحقیق مطالعه اپیدمیولوژیکی شیوع سرمی لیشمانیوز احشائی بین سگ‌سانان وحشی شهرستان سراب (آذربایجان شرقی) و نقش احتمالی سگ سانان وحشی در انتقال این بیماری به انسان می‌باشد، برای اولین بار مطالعه‌ای با دید اپیدمیولوژیک راجع به وضعیت کنونی این بیماری در سگ‌سانان وحشی شهرستان طی سال ١٣٨٨ به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه و موقعیت جغرافیایی:

شهرستان سراب با وسعتی معادل ٣٤٥٢/٢ کیلومتر مربع ٧/٧١ ٪ از کل مساحت استان آذربایجان شرقی را به خود اختصاص داده است و از این لحاظ رتبه سوم را بین شهرستان‌های استان دارا می‌باشد. از شمال به شهرستان‌های مشکین شهر و هریس از شرق به استان اردبیل از جنوب به شهرستان میانه و از غرب به شهرستان بستان آباد محدود است. ارتفاع این شهرستان از سطح دریا ١٦٥٠ متر می‌باشد و دارای آب و هوای کوهستانی می‌باشد (٣١). این تحقیق جهت بررسی شیوع سرمی لیشمانیوز احشائی زئونوتیک (ZVL) در میان سگ‌سانان اطراف شهرستان سراب و بررسی احتمال، وجود ارتباط بین سگ‌سانان

Archive of SID

www.SID.ir

وحشی آلوده، در انتقال انگل به انسان در سال ۸۹-۸۸ انجام گردید. در این مطالعه ۱۰ قلاده روباه و ۲ قلاده گرگ جهت تشخیص لیشمانیوز احشائی بروش ایمونوفلورانس غیر مستقیم (IFA) و روش الایزا (ELISA) شکار شدند. از آنجایی که تاکنون مطالعه‌ای راجع به خصوصیات اپیدمیولوژیک عفونت احشائی *لیشمانیا اینفانتوم* در شهرستان سراب انجام نشده بود، مطالعه حاضر با دید سرواپیدمیولوژی برای اولین بار در آن شهرستان طی سال ۱۳۸۸ انجام پذیرفت. با هماهنگی صورت گرفته با ادارات کل دامپزشکی، بهداشت و محیط زیست استان آذربایجان شرقی ۱۰ قلاده روباه و ۲ قلاده گرگ از مهر ۱۳۸۸ تا شهریور ۸۹ توسط محیط‌بانان اداره کل محیط زیست استان (سراب) شکار و در اختیار گروه تحقیق قرار گرفت. روباه‌ها عمدتاً در اطراف شهر سراب و در نزدیکی‌های روستاها با استفاده از اسلحه شکاری هدف قرار گرفتند. ۲ قلاده گرگ مورد نظر، یکی در حوالی روستای اردها و دیگری در محل دفع زباله‌های شهر سراب شکار شدند. لازم به ذکر است تمامی مشخصات حیوانات شکار شده از نظر سن، جنس، رنگ و حتی محل و معاینات بالینی از نظر وجود علایم لیشمانیوز احشائی (ضایعات جلدی، ریزش مو، لاغری، زخم پوزه، بزرگی و پیچیدگی ناخن‌ها، لنفادنوپاتی موضعی یا عمومی، کراتیت، بزرگی شکم و اسهال) معاینه شده و در فرم‌های خاصی که به این منظور تهیه شده بود، ثبت گردید. بعد از شکار سگ‌سانان وحشی بلافاصله کالبد گشائی شده و حدود ۱۰ میلی‌لیتر خون قلبی داخل لوله‌های پلی‌پروپیلن (Polypropylene) توسط سرنگ کشیده شد، بعد از گذشت ۱۰-٦ ساعت، نمونه‌های اخذ شده به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از تکنیک‌های آزمایشگاهی و سانتریفیوژ با دور g ۸۰۰ به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه اقدام به جداسازی سرم‌ها گردید. در مرحله بعد سرم‌ها در داخل میکروتیوب‌های اپندروف ۱ میلی لیتری تقسیم و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. در نهایت سرم‌ها جهت انجام تست‌های الیزا و ایمونوفلورسانس غیرمستقیم آماده گردیدند. جهت تست ایمونوفلورسانس غیر مستقیم و الیزا کیت‌های تشخیصی *لیشمانیا اینفانتوم* سگی، تولیدی شرکت IDvet فرانسه با نام تجاری(,Id screen® Paris, France) استفاده گردید. در این بررسی آنتی IGg سگ کونژکه با ایزوتیوسیانات فلورسین (Sigma®) F4012 از بخش انگل شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه گردید. تیتر این کونژوگه ۱:۵۰ بود. بر اساس مطالعات محققین قبلی و با استفاده از آزمون میانگین هندسی عکس آنتی بادی و در نظر گرفتن سایر مطالعات انجام شده در منطقه تیتر مثبت برای آزمایش ≤۱:۸۰ تعیین گردید و تیتر سرمی مساوی و بزرگتر از ۱:۸۰ به‌عنوان مثبت تلقی گردید. در مورد الیزا بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت درصد OD نمونه برOD کنترل مثبت اگر بزرگتر و مساوی ۵۰٪ بود، به‌عنوان مثبت مورد قبول بود (جدول ۱). در نهایت نمونه‌ها با استفاده از دستگاه الیزا خوان (,Dynatech Laboratories Roseville, Canada) و میکروسکوپ فلورسنت (Olympus B×50, Japan) مورد مطالعه قرار گرفتند. برای نشان دادن *لیشمانیا اینفانتوم* در سگ سانان وحشی کالبد شکافی شده، در محل کالبد شکافی ابتدا دو عدد گسترش تماسی از طحال یا کبد گرفته و بلافاصله با الکل متانل ۹۵ درصد فیکس شده و در نهایت در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده بهداشت تبریز با رنگ آمیزی گیمسا ۱۰٪ نمونه‌ها مورد بررسی‌های پارازیتولوژی از نظر جسم لیشمن قرار گرفتند. جهت مطالعات هیستوپاتولوژیکی قطعاتی کوچکی از طحال، کبد، کلیه، ریه، غدد لنفاوی مزانتریک و قلب برداشت شد. قطعات در فرمالین ۱۰٪ به بخش پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات انتقال گردید. در ادامه بخش کوچکی از طحال و کبد حیوانات را در محیط‌های کشت اختصاصی *لیشمانیا اینفانتوم* در ,NNN RPMI 1640 و محیط کشت اشنایدر همراه با ۲۰٪ سرم جنینی گاو کشت داده شدند. پروماستیگوت‌های جدا شده در

Archive of SID
www.SID.ir

محیط کشت تولید انبوه شدند. جهت استخراج DNA روش فنل– کلروفرم استفاده گردید (١٤). در نهایت توسط پرایمرهای اختصاصی KDNA (F1, 5′- TCGCAGAACGCCCCTACC) R1, 3′-(AGGGGTTGGTGTAAAATAGG)) با تکنیک PCR آنالیز شدند.

یافته‌ها

در این بررسی جمعاً تعداد ١٠ نمونه سرم روباه و ٢ نمونه سرم گرگ تهیه شد و نمونه‌ها در آزمایشگاه تک یاخته شناسی دانشکده بهداشت وتغذیه دانشگاه علوم پزشکی تبریز با استفاده از تست‌های سرولوژیکی مورد آزمایش قرار گرفتند. در این بررسی ١ روباه از ١٠ روباه شکار شده با تست‌های IFA و ELISA به صورت سرم مثبت گزارش گردید. میزان تیتر IFA بزرگتر یا مساوی ١:١٢٨٠ بود و میزان جذب نوری در ELISA برابر با٢/١٢٧ (١٣٨٪=درصد نمونه (S/P٪) بود، روباه مذکور علایم مشخص بیماری شامل ضایعات جلدی، ریزش مو، لاغری، بزرگی و پیچیدگی ناخن‌ها، هپاتواسپلینومگالی بود. در لام‌های گسترش تماسی تهیه شده از کبد و طحال این روباه جسم لیشمن مشاهده و نتیجه کشت هم مثبت بود. در این مطالعه از ٢ گرگ شکار شده هیچ کدام به صورت سرم مثبت گزارش نگردید و نتیجه کشت هم منفی بود. انگل‌های ایزوله شده از روباه سرم مثبت جهت انجام PCR به مرکز تحقیقات کاربردی و دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز منتقل و با استفاده از پرایمرهای اختصصاصی k-DNA آزمایش PCR شد و به طور اختصاصی متعلق به جنس لیشمانیا بود (نگاره ١). تعیین توالی قطعی از طریق Sequencing صورت گرفت. برای تعین توالی نمونه مثبت PCR به مؤسسه تحقیقاتی MWG آلمان ارسال گردید. نتایج توالی با استفاده از نرم افزار BLAST بررسی شد و نمونه مربوط به انگل جدا شده از روباه به طور اختصاصی دارای ٩٩٪ همولوژی با Donovani complex (*L. infantum, L. donovani, L. Chagasi*) بود. برای تعیین توالی قطعی باید از قطعات ژنی دیگر یا از روش‌های اختصاصی دیگر همچون ایزوآنزیم استفاده کرد. در این مطالعه مشخص گردید گوشتخواران وحشی میزبانان اصلی برای لیشمانیوز احشائی در شهرستان سراب از استان آذربایجان شرقی هستند. در مشاهدات هیستوپاتولوژیکی تعداد ماکروفاژهای آلوده به انگل در مغز استخوان کمتر از طحال بود. فضای سینوزوئیدال طحال حاوی ماکروفاژهای زیادی بود که که داخل سیتوپلاسم آنها ارگانیسم‌های گردی، گاها به شکل C موجود بود. ارتشاح میان بافتی و ادم مشاهده گردید. طحال فیبروزه و مملو از ذرات مالپیگی و بسیار پر خون بود و هیستوسیت‌های آلوده در پالپ‌ها و ترابکولاها به فراوانی حضور داشتند. به‌دلیل نکروز و فیبروز نواحی مربوط به سلول‌های T پالپ سفید طحال تا حد زیادی کوچک شده و تعداد لنفوسیت‌ها و تجمع شدید PAS مثبت در قسمت‌های داخلی گزارش شد. داخل سلول‌های بیگانه خوار تک هسته‌ای، اشکال آماستیگوت لیشمانیا دیده می‌شود (نگاره ٤)، این ارگانیسم‌ها با هسته وزیکولار همراه با یک کینتوپلاست داخل سلول‌های بیگانه خوار تک هسته‌ای دیده می‌شود (نگاره ٦). داخل تعدادی از ماکروفاژها تجمعات رنگدانه هموسیدرین آشکار بود. پالپ سفید مملو از فولیکول‌های لنفاوی بزرگ شده بود و در پالپ قرمز سلول‌هائی با تراکم بالا و مقداری خون مشاهده شد. افزایش ماکروفاژها چشمگیر بود (نگاره ٥). در غدد لنفاوی کاهش لنفوسیت‌ها و در کبد افزایش سلول‌های کوپفر کبدی و وجود سلول‌های التهابی همراه با دژنرسانس سلول‌های کبدی و مشاهده اجسام لیشمن به میزان کمتر از طحال داخل سلول‌های کوپفر بود.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ١- رفرانس‌های مربوط به کیت تجاری *لیشمانیا اینفانتوم*

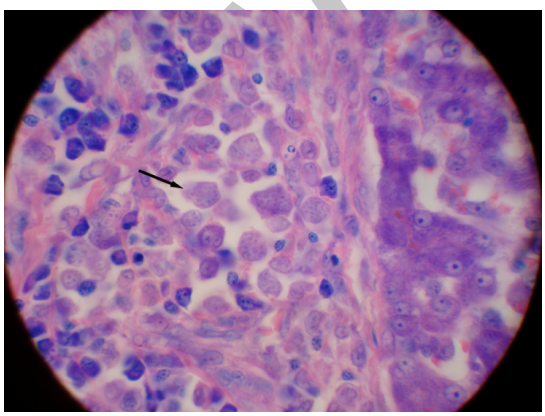
وضعیت	نتیجه
منفی	درصد نمونه (S/P%)≥٤٠٪
مشکوک	٤٠٪>درصد نمونه (S/P%)>٥٠٪
مثبت	درصد نمونه (S/P%)≤٥٠٪

درصد نمونه (S/P%) = OD نمونه/ OD کنترل مثبت ١٠٠

نگاره ١- ژل الکتروفورز محصولات PCR K-DNA در نمونه‌های مختلف": M:- مارکر١٠٠جفت بازی،A- کنترل منفی بدون DNA١و٢- نمونه مثبت سگ‌ها، ٣-نمونه مثبت روباه، ٤- لیشمانیا اینفانتوم استاندارد (MCAN/IR/96/LON49 آزمایشگاه دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران (٧٥٠ جفت بازی)

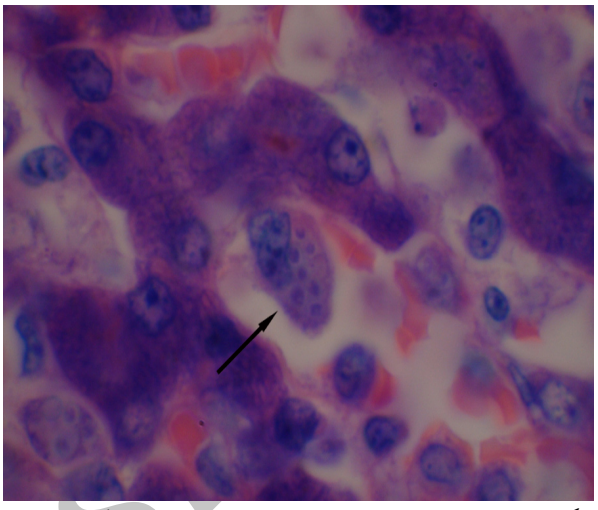
نگاره ٢- نمونه برداری از روباهای شکار شده در منطقه سراب

نگاره ٣- روباه مبتلا به لیشمانیوز احشائی

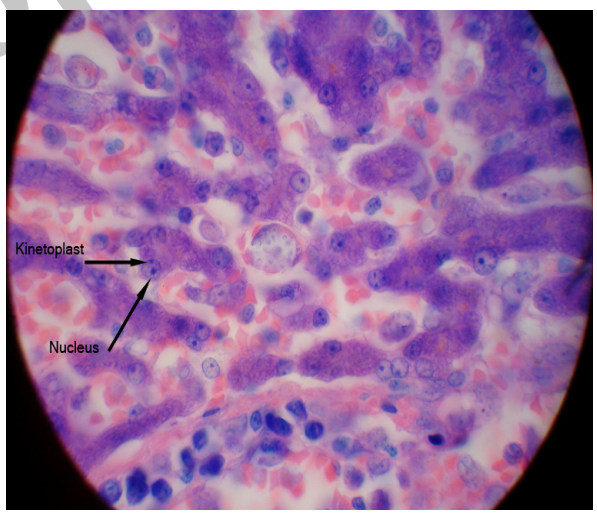


نگاره ٤- طحال روباه حاوی سلول‌های بیگانه خوار تک هسته‌ای که داخل سیتوپلاسم آنها اشکال آماستیگوت لیشمانیا دیده می‌شود (رنگ‌آمیزی H&E، بزرگنمایی ١٠).

www.SID.ir



نگاره ٥- طحال روباه سرم مثبت که در داخل سلول‌های بیگانه خوار تک هسته‌ای، اشکال آماستیگوت لیشمانیا دیده می‌شود (رنگ‌آمیزی H&E، بزرگنمایی ١٠٠).



نگاره ٦- ارگانیسم‌هایی با هسته وزیکولار همراه با یک کینتوپلاست داخل سلول‌های بیگانه خوار تک هسته‌ای دیده می‌شود (رنگ‌آمیزی H&E، بزرگنمایی ١٠).

بحث و نتیجه‌گیری

سازمان بهداشت جهانی WHO عفونت ناشی از *L.infantom* را به‌عنوان یکی از بیماری‌های مشترک مهم محسوب می‌کند (١٢). لیشمانیوز احشائی نوع مدیترانه‌ای یکی از مهم‌ترین و خطرناک‌ترین بیماری‌های قابل انتقال از حیوان به انسان می‌باشد. سگ و سگ سانان وحشی (روباه و شغال) مهم‌ترین مخازن حیوانی لیشمانیوز احشائی در مناطق اندمیک ایران به‌شمار می‌روند (٢). سگ به عنوان مهم‌ترین منبع عفونت در مناطق اندمیک لیشمانیوز احشائی در ایران می‌باشد (٣، ٦ و ٢٣). تشخیص روتین انگل با مشاهده آماستیگوت‌های انگل در اسمیرهای تهیه شده از طحال و مغز استخوان می‌باشد، اگرچه آزمایش میکروسکوپی سریع ارزان و راحت است ولی فاقد حساسیت لازم به هنگامی که تعداد انگل در بافت کم است می باشد. و از طرفی قادر به تشخیص گونه‌های انگل می‌باشد. تست IFA کاملاً حساس و اختصاصی است و به‌عنوان یک تست کیفی در تشخیص لیشمانیوز کاربرد دارد. تفسیر این آزمایش از اهمیت بالایی برخوردار است (٢). مطالعات محققین در ایران نشان می‌دهد که لیشمانیا اینفانتوم Lon49 عامل اصلی بیماری در انسان و حیوانات مخزن در قسمت‌های مختلف ایران می‌باشد (٣، ٢٥ و ٢٦). طی مطالعه توسط ندیم و همکاران (١٩٨٤) که در منطقه شمال ایران به منظور بررسی مخازن حیوانی لیشمانیوز احشایی صورت گرفت، ٢٠ قلاده شغال و ١٠ قلاده روباه مورد کالبدشکافی قرارگرفتند یک شغال زرد (*Canis aureus*) دارای علایم بالینی (ضعف، لاغری، ریزش مو و زخم ناحیه پوزه) بود. محل صید این شغال منطقه‌ای بین ساری و نکا در شرق دریای خزر بود و در یک روباه ظاهراً سالم و بدون علایم بالینی در ناحیه شرقی سلسله جبال البرز در ١٥ کیلومتری شرق شاهرود، توانستند آماستیگوت‌های انگل لیشمانیا را به تعداد کم مشاهده کنند (٢٥). در بررسی حمیدی (١٣٥٩) در منطقه شمال ایران، از مجموع ١٦١ قلاده شغال تعداد ٨ قلاده آلوده تشخیص داده

Archive of SID

www.SID.ir

شدند (١٦). در مطالعه محبعلی و همکاران (٢٠٠١) روی ٣٠ سگ‌سان وحشی (١٠ روباه، ١٠ شغال و ١٠ گرگ) تنها در ١ روباه، ١ شغال و١ گرگ *لیشمانیا اینفانتوم* گزارش گردید (٢٤). در تحقیقی که به منظور بررسی اپیدمیولوژی لیشمانیوز جلدی و احشایی و تعیین مخازن آنها توسط محبعلی و همکاران (٢٠٠١) در شهرستان دشتی و دشتستان، استان بوشهر در طی سال‌های (٧٩-٧٧) انجام گرفت، پس از مطالعه روی ٤ روباه، ١٠ شغال مشخص گردید که یک قلاده از شغال‌ها هم از نظرسرولوژیکی و هم از نظر پارازیتولوژیکی نسبت به لیشمانیوز احشایی مثبت بود (٢٤). در مطالعه Courtenay و همکاران (٢٠٠٢) در برزیل روی ٣٧ روباه ٢٩ قلاده (٧٨٪) به صورت سرم مثبت گزارش شدند (٩). در تحقیق Dipineto و همکاران در سال ٢٠٠٧ روی ٥٠ قلاده روباه در جنوب ایتالیا با استفاده از روش PCR، ٢٠ قلاده به‌صورت مثبت بودند (١٠). در مطالعه Mancianti و همکاران (١٩٩٤) که در ایتالیا با استفاده از تست IFA و ELISA صورت گرفت ١٨٪ روباه‌ها دارای آنتی‌بادی‌های ضد لیشمانیا بودند (١٨). Bettiniو همکاران در سال ١٩٨٠ در ایتالیا روی ٣٥ قلاده روباه شکار شده تنها نتیجه کشت ٤ روباه در هامستر را مثبت گزارش کردند (٨). در بررسی Sobrino و همکاران در سال ٢٠٠٨ روی ٣٩ گرگ و ١٦٢ روباه در اسپانیا با استفاده از روش PCR-RFLP به ترتیب ٨ و ٢٣ قلاده مثبت گزارش کردند (٣٠). با جدا نمودن انگل از طحال و کبد یک روباه با روش‌های پارازیتولوژی و تعیین گونه انگل با روش‌های مولکولی نقش سگ‌سانان وحشی به‌عنوان یکی از مخازن بیماری که می‌بایست در برنامه‌های کنترلی در نظر گرفته شوند. نکته‌ای که می‌توان به عنوان یک فرضیه جدید عنوان نمود، این است که ممکن است سویه‌های متفاوتی از انگل *Leishmania infantum* در منطقه وجود داشته باشد، طوری که این سویه‌ها از نظر ایجاد بیماری و یا خصوصیات آنتی‌ژنیک با یکدیگر متفاوت باشند. بنابراین، اثبات این نکته نیاز به مطالعه دقیق ملکولی و تعین ژن مسئول بیماری در سویه‌های جدا شده از سگ‌سانان دارد. بنابراین جهت کنترل لیشمانیوز احشائی در مناطق اندمیک توصیه می‌شود، با اجرای دقیق برنامه‌های کنترلی تمامی سگ‌های آلوده معدوم شده و سگ‌های صاحبدار به‌وسیله آزمایش‌های سرولوژی غربالگری شده و در صورت مثبت بودن آزمایشات فوق، نسبت به معدوم کردن آنها اقدامات لازم صورت گیرد (٢ و ٢٨). در نهایت درمان افراد مبتلا به‌صورت جدی همراه با کنترل پشه‌های ناقل به شرطی که باعث تخریب محیط زیست و ایجاد خطرات بهداشتی در انسان نشود و تنظیم برنامه‌های کنترلی اقدامی مؤثر در پیشگیری از بیماری لیشمانیوز احشائی خواهد بود (٧ و ١٥).

سپاسگزاری

بدین وسیله از استادان ارجمند آقایان دکتر علی اسلامی، دکتر ناصر حقوقی راد، دکتر مهدی محبعلی، دکتر هما هجاران، دکتر ایرج سهرابی، سازمان دامپزشکی استان آذربایجان شرقی، سازمان محیط زیست استان، ادراره کل بهداشت استان، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تبریز و دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران و معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، بخش ایمونولوژی بیمارستان امام رضا (ع) تبریز و بخش بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات داروئی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی مرند که در تهیه این مقاله کمک‌های بی‌دریغ‌شان را مبذول داشتند، تشکر و قدردانی می‌نمائیم.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

١. محبعلی، م.، فلاح، ا.، جمشیدی، ش. و حجاران، ه. .١٣٨٠. ارزیابی روش سرولوژی الیزا با استفاده از آنتی‌ژن فیگوره در تشخیص آزمایشگاهی عفونت لیشمانیوز احشایی سگ. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ٥٦، شماره ٣، صفحات: ٣٢-٢٩ .

٢. محبعلی، م.، حمزوی، ی.، فلاح، ا. و زراعی، ز. ١٣٨٠.مطالعه لشمانیوز احشائی در سگ‌های بعضی از مناطق ایران و اهمیت بهداشتی آن. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ٥٦، شماره ٣، صفحات: ٥٩-٥٥.

٣. محبعلی، م. ، بهمن رخ، م. ، موسوی فر، الف. ١٣٧٦. مطالعه انگل‌شناسی و هیستوپاتولوژی لیشمانیوز احشائی در تعدادی از سگ‌های شهرستان مشکین شهر. پژوهش و سازندگی، شماره ٣٧، سال ١٠، جلد ٤، صفحات: ١٢٥-١٢٢.

٤. فرشچیان، م. ١٣٨٠. تعیین و مطالعه مخازن لیشمانیوز احشائی در منطقه آذرشهر استان آذربایجان شرقی در سال ٨٣-٨٢. پایان نامه برای اخذ درجهٔفوق لیسانس انگل شناسی، دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، صفحات: ٤٩-٣.

5. Abranches, P., Silva-Pereira, M.C.D. Conceiao-Silva, F.M., Santos-Gomes, G.M.J, and J.G. 1991. Canine Leishmaniosis pathological and ecological factors influencing transmission of Infection. J. Parasitol. 77: 557-561.
6. Ashford, D.A., Badaro, R., Eulalio, C., Freire, M., Miranda, C., Zalis, M.G., and et al. 1993. Studies on the control of visceral leishmaniasis: validation of the Falcon assay screening test-enzyme linked immunosorbent assay (FAST-ELISA) for field diagnosis of canine visceral leishmaniasis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 48: 1–8.
7. Ashford, R.W. 1997. The leishmaniasis as model zoonoses. Ann. Trop. Med. Parasitol. 91: 693-701.
8. Bettini, S., Pozio, E., Gradoni, L. 1980. Leishmaniasis in Tuscany (Italy) (II) Leishmania form wild Bodentia and Carnivora in a human and canine leishmaniasis focus. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 74(1):77-83.
9. Courtenay, O., Quinnell, R.J., Garcez, L.M. Dye. C. 2002. Low infectiousness of a wildlife host of *Leishmania infantum* the crab-eating fox is not important for transmission. Parasitology. 125: 407-14.
10. Dipineto, L., Manna, L., Baiano, A., Gala, M., Fioretti, A., Gravino and et al. 2007. Presence of Leishmania infantum in Red Foxes (*Vulpes vulpes*) in Southern Italy. Journal of Wildlife Diseases. 43(3): 518-20.
11. Desjeux, P. 2004. Leishmaniasis; current situation and new perspectives. CIMID. 27: 305-318.
12. Fallah, E., Farshchian, M., Mazlomi, A., Majidi, J., Kusha, A., Mardi, A., and et al. 2006. Study on the prevalence of visceral leishmaniasis in rodents of Azarshahr district (New focus), North West of Iran. Archives of Razi Institate. 61(7): 27-33.
13. Fakhar, M., Mohebali, M., Barani, M. 2004. Introduction of an endemic focus of kala-azar in Ghom province and seroepidemiological survey on visceral leishmaniasis in human and animal Reservoirs (dogs) in this area. Armaghane-danesh. Journal. 33: 43-52.
14. Farajnia, S., Alimohammadian, M.H. Reiner, N.E. Karimi, M. Ajdari, S. Mahboudi. F. Molecular characterization of a novel amastigote stage specific Class I nuclease from *Leishmania major*. International Journal for Parasitology. 34: 899–08.
15. Handemir, E., Oncel, Z., Kamburgil, T. 2004. Seroprevalence of visceral Leishmaniasis in stray Dogs in Istanbul. T.P.D. 28(3): 123-125.
16. Hamidi, A.N. 1982. Visceral Leishmaniasis of Jackals and dogs in northern Iran. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hgy. 26: 7-256.
17. Khorshidian, S., Hajjaran, H., Sarkissian, M.T., Edrissian, Gh. H. 1994. Evaluation of ELISA, using intact promastigotes as antigen, for diagnosis of visceral leishmaniasis. Iran. J. Med. Sci.19 (1, 2): 15-18.
18. Mancianti, F., Mignone, W., Galestri. F. 1994. Serologic survey for leishmaniasis in free-living red foxes (*Vulpes vulpes*) in Italy. Journal of Wildlife Diseases. 30: 454–56
19. Mohebali, M., Hajjaran, H., Hamzavi, Y., Mobedi, I., Arashi, S., Zarei, Z., and et al. 2005. Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniosis in the Islamic Republic of Iran. Vet. Parasitol. 129: 243–51.
20. Mohebali, M., Fallah, E., Hajjaran, H. 1998. Vaccine trial against Canine Visceral leishemaniasis in the Islamic Repubic of Iran. E. Mediterr. Hlth. J. 4(2): 234-238.
21. Mohebali, M., Poormohammadi, B., Kanani, A., Hajjaran, H., Edrissian, G.H. 1998. Rodents another group of animal hosts of visceral leishmaniasis in Mesh kin Shahar district, Islamic Republic of Iran. LRS Mediterranean Oriental. 4 (2): 376-378.

www.SID.ir

22. Moshfe, A., Mohebali, M., Edrissian, G.H., Zarei, Z., Akhoundi, B., Kazemi, and et al. 2008. Seroepidemiological Study on Canine Visceral Leishmaniasis in Meshkin-Shahr District, Ardabil Province, Northwest of Iran during 2006-2007. Iranian. J. Parasitol. 3(3): 1-10.
23. Mohebali, M., Parsa, B., Motazedian, M.H., Yaghoobi-Ershadi, M.R., Hajjaran, H. 2002. Identification of Leishmania species from different parts of Iran using a random amplified polymorphism DNA in human, animal reservoirs and vectors. Med. J. Islamic Rep Iran. 15:243-6.
24. Mohebali, M., Hamzavi, Y., Edrissian, G.H. 2001. Seroepidemiological study of visceral leishmaniasis among humans and animal reservoirs in Bushehr province, Islamic Republic of Iran. East Mediterr Health. J. 7:912-17.
25. Nadim, A., Hamidi, A.N., Javadian, E. 1982. Present status of Kala-azar in Iran. Am.J.Trop.Med.Hgy, 27: 25-28.
26. Ozensoy, T. S., Ertabakhar, H., Ozbel, Y., Balcioglu, C., Yildizli, N., Ziya Alkan, M. 2005. Seroprevalence of canine visceral leishmaniasis in kusadasi- Turkey. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 29: 23-26.
27. Ozbel, Y., Oskam, L., Ozensoy, S., Turgay, N., Alkan, M.Z., Jaffe, C.L., and et al. 2000. A survey on canine leishmaniasis in western Turkey by parasite, DNA and antibody detection assays. Acta Trop. 74: 1–6.
28. Semiao Santos, S.J., Abranches, P. Pereira, S., Games, S., Fernandes, J.P., Vetter, J.C.M. 1996. Reliability of serological Methods for Defection of Leishmaniasis in Portuguese Domestic and wild Reservoirs. Mem. Inst. Oswald .Cru2, Rio de Joneiro. 91(6): 747-750.
29. Sharifi, I., Daneshvar, H. 1994. The prevalence of visceral leishmaniasis in suspected canine reservoirs in southern Iran. Iran .Ians. Med. Sci. 21(3, 4): 130-134.
30. Sobrino, R., Ferroglio, E., Oleaga, A., Romano, A., Millan, J., Revilla, and et al. 2008. Characterization of widespread canine leishmaniasis among wild carnivores from Spain. Vet Parasitol. 155(3-4):198-203.
31. Statistical calendar of East Azerbaijan Province 2002 and management and planning organization east Azerbaijan Province, GIS Unit.
32. Taran, M., Mohebali, M., Modaresi, M.H., Manishi, S., Mahamadi, M., Mojarad, M. 2007. Diagnosis of canine visceral leishmaniasis by ELISA using K39sub Recombinant Antigen. Iranian. J. Publ. Health. 39 (2): 1-6.
33. World Health Organization. 1990. The leishmaniases, Report of a WHO Export committee World Health Organization. Geneva. pp793.
34. World Health Organization. 1980. The Leishmania report of a W.H.O exports committee, Technical Report Series. p: 101.

Archive of SID

www.SID.ir