

مطالعه شیوع سرمی لیشمانیازیس احشایی در سگهای صاحبدار شهرستان سراب (آذربایجان شرقی) بروش الایزا وایمونو فلورسانس غیر مستقیم

مجید خانمحمدی^{۱*}، اسماعیل فلاح^۲، صادق رهبری^۳

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۹ تاریخ پذیرش: ۹۰/۲/۳۰

چکیده

در این مطالعه تعداد ۳۸۴ نمونه سرم از سگهای صاحبدار شهرستان سراب تهیه شد و از نظر شیوع سرمی لیشمانیازیس احشایی با استفاده از آزمونهای سرمی الایزا وایمونو فلورسانس غیر مستقیم مورد آزمایش قرار گرفت. شیوع سرمی لیشمانیازیس احشایی در سگهای مورد مطالعه با تست بروش الایزا وایمونو فلورسانس غیر مستقیم به ترتیب ۹/۱٪ و ۸/۵٪ گزارش گردید. بیشترین تعداد سگهای آلوده مربوط به سگهای سه ساله با (۲۵/۷٪) و کمترین سن آلودگی در بین ۱ ساله ها (۲/۹٪) بود. همچنین از نظر آماری ارتباط معنی داری بین عفونت لیشمانیازیس احشایی و سن و جنس سگها وجود نداشت. ۹ قلاده (۲۳/۲٪) از سگهای سرم مثبت حداقل یک علامت کلینیکی را نشان دادند. ۴ قلاده (۱۷/۴٪) از سگهای دارای علایم و ۳۱ قلاده (۸/۶٪) از سگهای بدون علایم سرم مثبت داشته و فاقد علایم لیشمانیازیس احشایی بودند. از نظر آماری ارتباط معنی داری بین لیشمانیازیس احشایی، لاغری و ریزش مو در سگها مشاهده گردید ($p=0/031$). ارتباط معنی داری بین لیشمانیازیس احشایی و بزرگی کبد و طحال در سگها مشاهده نگردید ($p=0/065$) بین سگهای علامت دار و بدون علامت با بیماری لیشمانیوز احشایی ارتباط آماری معنی داری وجود داشت ($p=0/015$). در این بررسی تیترا آنتی بادی در سگهای نر بیشتر از سگهای ماده بود، و این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود ($p=0/023$). نتایج بررسی حاضر نشان می دهد که که سگهای بدون علامت نقش بسیار مهمی در نگهداری و انتقال انگل دارند.

واژگان کلیدی: سرواید میولوژی، لیشمانیازیس احشایی، الایزا، ایمونو فلورسانس غیر مستقیم

مقدمه

لیشمانیازیس احشایی یکی از بیماریهای انگلی سیستمیک و زئونوتیک شایع می باشد، که به عنوان یک معضل بهداشتی در برخی از کشورهای مناطق گرمسیر

و نیمه گرمسیر مطرح می باشد (۲ و ۳ و ۱۸). لیشمانیازیس احشایی جزء بیماری های اندمیک ایران و بیش از ۸۰ کشور جهان محسوب می شود و همه ساله نزدیک به ۵۰۰۰۰۰۰ مورد جدید بیماری در سال از نقاط مختلف جهان گزارش می شود (۴، ۱۴، ۱۵ و ۱۶). لیشمانیازیس احشایی در کشورهای خاورمیانه گسترش زیادی دارد. عامل لیشمانیازیس احشایی در ایران

۱- استادیار گروه انگل شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرند، مرند- ایران

۲- دانشیار گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز- ایران

۳- استاد گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران- ایران

*- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mkh593@marandiau.ac.ir

مشکین شهر (۳۲) در سگهای علامت دار و با احتساب دقت ۰/۰۴٪ و ضریب اطمینان ۹۵٪ و حد اکثر خطای ۰/۰۵٪ حجم نمونه انتخابی ۳۸۴ قلاده سگ تعیین گردید. از آنجایی که تاکنون مطالعه ای راجع به خصوصیات اپیدمیولوژیک عفونت احشائی لیشمانیا / اینفانتوم در شهرستان سراب انجام نشده بود، لذا 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، مجموعاً ۳۸۴ قلاده سگ گله و خانگی از ۳۰ روستای اطراف شهرستان سراب از مهر ۱۳۸۷ تا شهریور ۸۸ انتخاب گردید. تمامی مشخصات سگها از نظر سن، جنس، رنگ و حتی محل و معاینات بالینی از نظر وجود علائم لیشمانیازیس احشایی (ضایعات جلدی، ریزش مو، لاغری، زخم پوزه، بزرگی و پیچیدگی ناخنها، لنفادنوباتی موضعی یا عمومی، کراتیت، بزرگی شکم و اسهال) ثبت گردید (۳ و ۶). هیچ گونه تفکیکی از لحاظ نژاد در سگها اعمال نگردید. تمامی سگها قبل از خونگیری توسط دکتر دامپزشک معاینه شده و علائم احتمالی لیشمانیوز احشائی در فرمهای خاصی که به این منظور تهیه شده بود، ثبت گردید. در مرحله بعد اقدام به خونگیری از سگها گردید. انتخاب سگها تماماً بصورت تصادفی بود. از هر سگ به میزان ۷ میلی لیتر خون از ورید سفالیک یا سافن اخذ و داخل لوله‌های پلی پروپیلن (Polypropylene) توسط سرنگ کشیده شد، بعد از گذشت ۱۰-۶ ساعت، نمونه های اخذ شده به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از تکنیکهای آزمایشگاهی و سانتریفیوژ با دور ۸۰۰ g به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه اقدام به جداسازی سرماها گردید. در مرحله بعد سرماها داخل میکرو تیوب های اپندروف ۱ میلی لیتری تقسیم و در ۲۰-درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در نهایت سرم ها جهت انجام آزمایش های الیزا و ایمونو فلورسانس غیر مستقیم آماده گردیدند. از ۳۸۴

لیشمانیا اینفانتوم نوع مدیترانه ای می باشد. سگ به عنوان میزبان اهلی و شغال، روباه و گرگ بعنوان میزبان وحشی اصلی ترین مخزن لیشمانیازیس احشایی هستند (۴ و ۸ و ۲۴ و ۲۶). لیشمانیا اینفانتوم توسط پشه خاکی های خانواده پسیکودیده منتقل می شود. پشه خاکی های ناقل لیشمانیا به انسان و پستانداران حساس بیشتر متعلق به جنس های فلبتوموس و لوتزومیا بوده و انگل را بین مخازن حیوانی و انسان انتقال می دهند (۵ و ۶ و ۱۵ و ۲۴ و ۳۲). سگهای بدون علامت مهمترین منبع برای پشه خاکی های ناقل جهت انتقال انگل به انسانها می باشند (۲۴). تا کنون حداقل چهار کانون اندمیک این بیماری در مناطقی از استانهای اردبیل، شهرستانهای مشکین شهر و مغان (گرمی، پارس آباد و بیله سوار)، آذربایجان شرقی (کلبر، اهر و آذرشهر)، فارس (جهرم، قیر و کازرون)، سمنان، بوشهر و قم (۹) و کرمان و کرج مورد مطالعه و تأیید قرار گرفته اند، و هر ساله موارد تک گیر لیشمانیازیس احشایی از سایر نقاط ایران گزارش می گردد. در کانونهای اردبیل و آذر بایجان شرقی انگل لیشمانیای جدا شده از مخازن حیوانی، بعد از آزمایشات بیو شیمیائی (ایزو آنزیم)، از نوع انگل لیشمانیا اینفانتوم LON49 تعیین گردید، این انگل دقیقاً همان سویه ای است که در موارد زیادی از افراد مبتلا به کالا آزار در استانهای یاد شده جدا شده است، بنابراین بطور قطع می توان گفت سگ سانان مبتلا به لیشمانیازیس احشایی مهمترین مخازن حیوانی این عفونت برای انسان محسوب می شوند (۳، ۲۴، ۲۶ و ۲۸).

مواد و روش کار

روش مطالعه در این تحقیق به صورت توصیفی مقطعی و نمونه برداری به صورت خوشه ای چند مرحله ای و تصادفی بود. از ۱۶۷ روستای مسکونی ۳۰ روستا به صورت تصادفی توسط کامپیوتر انتخاب و در خوشه ها قرار گرفتند. با در نظر گرفتن حداقل میزان شیوع لیشمانیوز احشائی (۰/۴٪) در سگهای منطقه اندمیک

انگل جدا شده از سگهای سرم مثبت در محیط کشت تولید انبوه شدند. میزان شیوع سرمی و متغیرهای مربوطه تعیین شد و ارتباط بین آنها با آزمون کای دو (۲) χ^2 ، آزمون توصیفی و تست دقیق فیشر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت مقایسه شیوع سرمی با جنس و علایم کلینیکی از بسته نرم افزار آماری SPSS ۱۳/۵ با ارزش $p < 0/05$ استفاده شد.

نتایج

در این مطالعه تعداد ۳۸۴ نمونه سرم از سگهای صاحبدار شهرستان سراب تهیه شده و با استفاده از آزمونهای سرمی الایزا وایمونو فلورسانس غیر مستقیم مورد آزمایش قرار گرفتند. شیوع سرمی لیشمانیازیس احشایی در سگهای مورد مطالعه با آزمون الایزا وایمونو فلورسانس غیر مستقیم به ترتیب ۹/۱٪ و ۸/۵٪ (۱۲/۴- ۶/۶ I.C. ۹۵٪) گزارش گردید. ۳۰۶ قلاده (۷۹/۷٪) سگ نر و ۷۸ قلاده (۲۰/۳٪) ماده بود. ۲۸ قلاده (۹/۲٪) سگ نر و ۷ قلاده (۹٪) سگ ماده بصورت سرم مثبت گزارش گردید (جدول ۱). از نظر آماری اختلاف معنی داری بین آلودگی و جنس وجود نداشت ($p = 0/962$). بیشترین تعداد سگهای آلوده مربوط به سگهای سه ساله با (۲۵/۷٪) و کمترین سن آلودگی بین اساله‌ها (۲/۹٪) بود (جدول ۳). از نظر آماری ارتباط معنی داری بین عفونت لیشمانیازیس احشایی و سن سگها مشاهده نگردید ($p = 0/332$). ۹ قلاده (۲۳/۲٪) سگ از سگهای سرم مثبت حداقل یک علامت کلینیکی شامل زخمهای جلدی، ریزش مو، لاغری، بزرگی و پیچیدگی ناخنها، لیمفادنوپاتی موضعی یا عمومی، کراتیت، بزرگی کبد و طحال و اسهال را نشان دادند. از ۲۳ قلاده (۶٪) سگ علامت دار تنها ۴ قلاده (۱۷/۴٪) سگ سرم مثبت و از ۳۶۱ قلاده (۹۴٪) سگ بدون علامت ۳۱ قلاده (۸/۶٪) سرم مثبت و فاقد علایم لیشمانیازیس احشایی بودند (جدول ۲). بیشترین علامت کلینیکی در سگهای علامت دار لاغری و ریزش مو با

سگ تحت مطالعه ۳۰۶ قلاده (۷۹/۷٪) نر و ۷۸ قلاده (۲۰/۳٪) ماده بودند. میانگین سن سگها $3/29 \pm 1/38$ بود. بیشترین تعداد سگها در گروه سنی ۲-۴ سال (۴۴/۳٪) و کمترین تعداد سگها در گروه سنی ۷ سال (۰/۳٪) بود. جهت آزمون ایمونو فلورسانس غیر مستقیم و الایزا کیت‌های تشخیصی لیشمانیا اینفانتوم سگی، تولیدی شرکت IDvet فرانسه با نام تجاری (Id screen®, Paris, France) استفاده گردید. در این بررسی آنتی Igg سگ کونژگه با ایزوتیوسیانات فلورسین F4012 (Sigma®) از بخش انگل شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه گردید. میزان تیتراژ این کونژوگه ۵۰:۱ 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 تیتراژ سرمی بزرگتر مساوی ($\leq 1:80$) بعنوان مثبت تلقی گردید. در مورد الایزا بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت میزان جذب نوری بزرگتر و مساوی ۰/۵۰ بعنوان مثبت مورد قبول بود. در نهایت نمونه‌ها با استفاده از دستگاه الایزا خوان (Dynatech Laboratories, Roseville, Canada) و میکروسکوپ فلورسنت (Olympus Bx50, Japan) مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته‌های میکروسکوپی، جداسازی و کشت انگل برای جداسازی لیشمانیا اینفانتوم در تعدادی از سگها که دارای تیتراژ بالا در آزمون ایمونو فلورسانس و یا درصد جذب نوری بالا در الایزا داشتند، مورد کالبد گشایی قرار گرفتند، گسترش‌های تهیه شده از طحال و کبد بلافاصله با الکل متانل ۹۵ درصد فیکس و در نهایت با رنگ آمیزی گیمسا رنگ آمیزی گردید، سپس تمامی گسترش‌های نازک تحت بررسی میکروسکوپی قرار گرفت. در ادامه بخش کوچکی از طحال و کبد سگها در محیط‌های کشت اختصاصی لیشمانیا اینفانتوم در (Sigma®-Aldrich, Dorset, UK) NNN, RPMI 1640 و محیط کشت اشنايدر (Gibco®) همراه با ۲۰٪ سرم جنینی گاو کشت داده شد. پروماستیگوت‌های

جدول ۳- شیوع لیمانیازیس احشایی بر حسب سن در

سگهای تحت بررسی

سن	تعداد سگه (درصد)	آزمون الیزا مثبت		مثبت IFA آزمون	
		تعداد	شیوع سرمی (درصد)	تعداد	شیوع سرمی (درصد)
۲-۰	۱۲۶ (۳۲/۸)	۹	۷/۱	۹	۷/۱
۴-۲	۱۷۰ (۴۴/۳)	۱۸	۱۰/۵	۱۶	۹/۴
۶-۴	۸۷ (۲۲/۶)	۸	۹/۱	۸	۹/۱
۷≤	۱ (۰/۳)	-	-	-	-
جمع	۳۸۴ (۱۰۰)	۳۵	۹/۱	۳۳	۸/۵

جدول ۴- توزیع تیترا آنتی بادی های ضد لیسمانیا در

سگهای شهرستان سراب بر اساس آزمون IFA

نتیجه	تعداد سگها (درصد)	تیترا آنتی بادی *
(-)	۳۸۴ (۹۰/۹)	-
(-)	۲ (۰/۵)	۱:۴۰
(+)	۲ (۰/۵)	۱:۱۶۰
(+)	۵ (۱/۴)	۱:۳۲۰
(+)	۱۱ (۲/۹)	۱:۶۴۰
(+)	۹ (۲/۳)	۱:۱۲۸۰
(+)	۴ (۱/۵)	< ۱:۱۲۸۰
-	۳۸۴ (۱۰۰)	جمع

*عبار آنتی بادی $\leq 1:80$ مثبت تلقی شده است.

جدول ۵- توزیع عفونت لیسمانیاژیس احشایی در روستاهای

مختلف شهرستان سراب در سگهای تحت بررسی

روستا	تعداد سگها (درصد)	آزمون الیزا مثبت		آزمون IFA مثبت	
		تعداد	شیوع سرمی (درصد)	تعداد	شیوع سرمی (درصد)
اردها	۴۰ (۱۰/۴)	۵	۱۲/۵	۵	۱۲/۵
چهبندان	۱۵ (۳/۹)	۳	۲۰	۳	۲۰
بهرمان	۱۶ (۴/۱)	۴	۲۵	۴	۲۵
ارزنق	۳۱ (۸/۱)	۲	۶/۴	۲	۶/۴
براقوش	۲۲ (۵/۷)	۵	۲۲/۷	۵	۲۲/۷
اسفروشان	۷۰ (۱۸/۲)	۱	۱/۴	-	-
جلده باغان	۲۷ (۷/۳)	۹	۳۳/۳	۹	۲۹/۶
خاکی	۳۰ (۷/۸)	۱	۳/۳	۱	۳/۳
اسفستان	۲۸ (۷/۲)	۵	۱۷/۸	۵	۱۷/۸
جمع	۲۷۹ (۷۲/۶)	۳۵	۱۲/۵	۳۳	۱۱/۸

بحث

لیسمانیاژیس احشایی نوع مدیترانه ای یکی از

۲۵/۷٪ در ۹ قلاده و کمترین علامت بزرگی کبد وطحال در ۵ قلاده (۱۴/۳٪) بود، و ارتباط آماری معنی داری بین لیسمانیاژیس احشایی و لاغری و ریزش مو در سگها مشاهده گردید ($p=0/031$). ارتباط معنی داری بین لیسمانیاژیس احشایی و بزرگی کبد و طحال در سگها وجود نداشت ($p=0/065$). بین سگهای علامت دار و بدون علامت با بیماری لیسمانیاژیس احشایی ارتباط آماری معنی داری وجود داشت ($p=0/015$). در این بررسی تیترا آنتی بادی در سگهای نر بیشتر از سگهای ماده بود، و این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود ($p=0/023$). در این بررسی تعداد ۲ (۰/۵٪) قلاده دارای تیترا ۱:۱۶۰ و ۵ قلاده (۱/۴٪) دارای تیترا ۱:۳۲۰ و ۱۱ قلاده (۲/۹٪)، تیترا ۱:۶۴۰ و ۹ قلاده (۲/۳٪) دارای تیترا ۱:۱۲۸۰ و ۴ قلاده (۱/۵٪) دارای تیترا بیشتر از ۱:۱۲۸۰ بود (جدول ۴). بیشترین میزان آلودگی در روستای جلده باغان با ۹ قلاده (۳۳/۳۵٪) و کمترین میزان آلودگی در روستای اسفروشان با ۱ (۱/۴٪) قلاده بود (جدول ۵). میزان توافق تست الیزا با علایم کلینیکی ۸۶/۶٪ بود. در گسترش های تماسی تهیه شده از کبد و طحال ۲۲ قلاده (۶۲/۸٪) از سگهای سرم مثبت جسم لیسمان مشاهده شد.

جدول ۱- شیوع سرمی لیسمانیاژیس احشایی بر حسب جنس در سگهای تحت بررسی

جنس	تعداد سگها (درصد)	تست الیزا مثبت	
		تعداد	شیوع سرمی (درصد)
نر	۳۰۶ (۷۹/۷)	۹/۲	۲۸
ماده	۷۸ (۲۰/۳)	۹	۷
جمع	۳۸۴	۹/۱	۳۵

جدول ۲- شیوع سرمی لیسمانیاژیس احشایی بر حسب

علایم درمانگاهی در سگهای تحت بررسی

علایم	تعداد سگها (درصد)	آزمون الیزا مثبت	
		تعداد سگها (درصد)	شیوع سرمی (درصد)
علامت دار	۲۳ (۶)	۴	۱۷/۴
بدون علامت	۳۶۱ (۹۴)	۳۱	۸/۶
جمع	۳۸۴ (۱۰۰)	۳۵	۹/۱

مهمترین و خطرناکترین بیماریهای قابل انتقال از حیوان به انسان می باشد. سگ و سگ سانان وحشی (روباه و شغال) مهمترین مخازن حیوانی لیشمانیازیس احشایی در مناطق اندمیک ایران بشمار می روند (۲۷ و ۳). سگ به عنوان مهمترین منبع عفونت در مناطق اندمیک لیشمانیازیس احشایی در ایران می باشد و تعیین میزان شیوع لیشمانیوز احشایی جهت کنترل عفونت لازم می باشد (۲۲ و ۳۹). چون اولاً جمعیت سگ در ایران زیاد است و بعد اینکه میزان آلودگی در سگ زیاد می باشد و از همه مهمتر اینکه انگل به راحتی در خون یا زیر پوست سگ متمرکز شده و به آسانی در دسترس پشه خاکی ها قرار می گیرد (۵ و ۴). تشخیص روئین انگل با مشاهده آماستیگوت های انگل در اسمیرهای تهیه شده از طحال و مغز استخوان می باشد اگرچه آزمایش میکروسکوپی سریع ارزان و راحت است ولی فاقد حساسیت لازم به هنگامی که تعداد انگل در بافت کم است می باشد. واز طرفی قادر به تشخیص گونه های انگل نیستیم. تشخیص لیشمانیوز احشایی بدلیل متنوع بودن علائم بالینی مشکل بوده و ممکن است با بیماریهای مشابهی که توسط سایر عوامل اتیولوژیکی ایجاد می شود اشتباه شود (۲۰ و ۲۱ و ۳۸). آزمون ایمونوفلورسانس غیرمستقیم کاملاً حساس و اختصاصی است و بعنوان یک تست کیفی در تشخیص لیشمانیازیس کاربرد دارد (۳). مطالعات محققین در ایران نشان می دهد که لیشمانیا اینفانتوم Lon49 عامل اصلی بیماری در انسان و حیوانات مخزن در قسمتهای مختلف ایران می باشد (۳ و ۱۳ و ۲۴). بر اساس نتایج این تحقیق ۳۵ قلاده (۹/۱٪) به روش الایزا و ۳۳ قلاده (۸/۵٪) به روش ایمونوفلورسانس غیر مستقیم مثبت بودند. نتایج مطالعه انجام شده توسط بکائی و همکاران در شهرستان مشکین شهر در سال ۱۹۹۸ از ۳۰۳ سگ آزمایش شده ۱۴/۸ درصد به روش آگلوتیناسیون مستقیم و ۲۰ درصد به روش ایمونوفلورسانس غیر مستقیم مثبت بودند که تنها ۱۳/۶ درصد از سگهای سرم

مثبت دارای علائم بالینی بودند و براساس نتایج حاصل از این مطالعه از ۲۲ قلاده سگ که تیترا آنتی بادی ضد لیشمانیا در آنها با استفاده از روش آگلوتیناسیون مستقیم تا ۱:۲۰۴۸۰ می رسید، فقط ۱۲ قلاده سگ (۵/۵٪) دارای علائم بالینی بودند (۱). در بررسی گاوگانی و همکاران در شمال غرب ایران ۲۰۰۶ حدود ۲۱٪ از سگهای صاحبدار سرم مثبت بودند (۱۷). در مطالعه دیگری توسط ادریسیان و آهن چین در شهرستانهای فیروز آباد، جهرم و قیر میزان عفونت سگهای بررسی شده با استفاده از روشهای آگلوتیناسیون مستقیم و ایمونوفلورسانس غیر مستقیم به ترتیب ۴۱/۶ و ۲۹/۱ درصد گزارش گردید (۱۲). در مطالعه شریفی ۱۹۹۶ در سگهای شهرستان بافت از استان کرمان با استفاده از روشهای ایمونوفلورسانس غیر مستقیم و الایزا میزان عفونت سگها به لیشمانیوز احشایی به ترتیب ۱۸ و ۵/۱۴ درصد گزارش گردیده است (۳۵). در مطالعه دیگری توسط محبعلی و همکاران بین سالهای ۱۳۷۵ در مشکین شهر انجام شد، از ۱۶۴ سگ آزمایش شده در روستای قورت تپه مشکین شهر با استفاده از تست آگلوتیناسیون مستقیم و الایزا به ترتیب ۱۲/۲ و ۱۶/۴ درصد سرم مثبت گزارش بودند. در مطالعه ای دیگر در سال ۱۳۷۹ در روستای پریخان مشکین شهر از ۳۴۴ سگ آزمایش شده بوسیله تست آگلوتیناسیون مستقیم و الایزا به ترتیب ۴/۹ و ۹/۸ درصد سرم مثبت بودند در مطالعه دیگری در سال ۱۳۷۹ توسط همین گروه در شهرستان دشتی از ۱۰۵ سگ آزمایش شده بوسیله تست آگلوتیناسیون مستقیم و الایزا به ترتیب ۳/۸ و ۱/۹ درصد سرم مثبت بودند (۳). در این مطالعه میزان حساسیت و ویژگی روش الایزا ۱۰۰ درصد بود، در حالیکه در روش ایمونوفلورسانس غیر مستقیم حساسیت ۱۰۰ درصد و ویژگی ۹۹/۷ درصد بود. در این بررسی تیترا آنتی بادی در سگهای نر بیشتر از سگهای ماده بود، ولی این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود که با نتایج سایر محققین در ایران همخوانی داشت

معدوم کردن آنها اقدامات لازم صورت گیرد (۳ و ۲۹ و ۲۷) با توجه به وجود مخازن حیوانی مختلف و شرایط اقلیمی و جغرافیای جانوری متنوع در این منطقه و با در نظر گرفتن زئونوتیک بودن انگل، کنترل مخازن حیوانی اجتناب ناپذیر بوده و مبارزه با پشه های ناقل و برنامه های کنترلی لازم اجرا می باشد. در نهایت درمان افراد مبتلا بصورت جدی همراه با کنترل پشه های ناقل به شرطی که باعث تخریب محیط زیست و ایجاد خطرات بهداشتی در انسان نشود و تنظیم برنامه های کنترلی اقدامی موثر در پیشگیری از بیماری لیشمانیوز احشائی خواهد بود (۸ و ۱۸ و ۳۱ و ۳۶).

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از آقایان، دکتر علی اسلامی، دکتر ناصر حقوقی راد، دکتر مهدی محبعلی، دکتر هما هجاران و سازمان دامپزشکی استان آذربایجان شرقی، سازمان محیط زیست استان، اداره کل بهداشت استان، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تبریز و دانشکده بهداشت وانستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران و معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی مرند، بخش ایمنولوژی بیمارستان امام رضا (ع) تبریز که در تهیه این مقاله کمک های بی دریغ شان را مبذول داشتند، تشکر و قدردانی می نمایم.

منابع

- ۱- بکائی، س. (۱۳۷۳): بررسی سرواییدمیولوژیک سگهای کانون لیشمانیوز احشائی شهرستان مشکین شهر و ارزشیابی عملیات کنترل بیماری در انسان، پایان نامه جهت دریافت درجه دکتری در رشته اپیدمیولوژی پزشکی از دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، به شماره ۲۲۲۴.
- ۲- فخار، م.، محبعلی، م.، بارانی، م. (۱۳۸۳): معرفی یک

(۳۵ و ۳۱). در این مطالعه ما بیشترین میزان لیشمانیازیس را در سگهای مسن (۳ ساله ها) یافتیم، مشفع و همکاران (۲۰۰۸) بیشترین میزان آلودگی را در سگهای مسن و بکائی و همکاران در سنین متوسط (۲-۴ سال) و محبعلی و همکاران (۲۰۰۵) در سگهای هشت ساله و بزرگتر گزارش کردند (۲۷ و ۲۴). در گسترش های تماسی تهیه شده از کبد و طحال ۲۲ سگ (۶۲/۸٪) از سگهای سرم مثبت جسم لیشمان مشاهده گردید که با نتایج سایر محققین همخوانی داشت (۳). در کل نتایج این تحقیق با نتایج سایر محققین در ایران مطابقت داشت (۱۲ و ۱). به جهت بالا بودن جمعیت سگ (۵ سگ برای هر ۱۰۰ نفر) در منطقه سراب و نقش مهم سگهای آلوده بدون علامت در اپیدمیولوژی و انتقال لیشمانیوز احشائی به انسان نشان دهنده نقش سگها در انتقال بیماری می باشد. در مطالعه حاضر ۳۱ قلاده سگ (۸/۴٪) با اینکه سرم مثبت بودند، ولی فاقد علایم لیشمانیوز احشائی بودند و با مطالعات مشفع و همکاران (۲۰۰۸) بکائی و همکاران (۱۹۹۸) در مشکین شهر، فرشچیان و همکاران در آذرشهر (۱۳۸۰) فخار و همکاران در قم (۲۰۰۴)، سلیمانزاده و همکاران در استان اردبیل (۱۹۹۷)، مولینا و همکاران (۱۹۹۴) در اسپانیا و ازبیل و همکاران در ترکیه و اوزنسوی و همکاران در کارابرون ترکیه (۲۰۰۲) و سیدرز و همکاران در یونان (۱۹۹۶) همخوانی داشت و نشان داد که سگهای بدون علامت نقش بسیار مهمی در نگهداری و انتقال انگل دارند (۱ و ۶ و ۷ و ۹ و ۱۷ و ۲۴ و ۲۷ و ۲۹ و ۳۷). بیشترین میزان سگهای سرم مثبت بین سگهای بدون علایم لیشمانیوز احشائی یافت گردید که با نتایج سایر محققین همخوانی داشت (۱ و ۹ و ۱۷ و ۲۴ و ۲۷ و ۳۳). بنابراین جهت کنترل لیشمانیوز احشائی در مناطق اندمیک توصیه می شود، با اجرای دقیق برنامه های کنترلی تمامی سگهای آلوده معدوم شده و سگهای صاحبدار بوسیله آزمایشهای سروولوژی غربالگری شده و در صورت مثبت بودن آزمایشات فوق، نسبت به

- ۸- محبعلی، م.، حمزوی، ی.، فلاح، ا.، زراعی، ز. (۱۳۸۰): مطالعه لیشمانیوز احشایی در سگهای بعضی از مناطق ایران و اهمیت بهداشتی آن، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۳، صفحه ۵۹-۵۵.
- ۹- مشفع، ا. (۱۳۷۶): بررسی میزان عفونت در سگهای صاحب دار شهرستان مشکین شهر از استان اردبیل، پایان نامه جهت دریافت درجه دکتری در رشته انگل شناسی پزشکی از دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، به شماره ۴۲۷۶.
- 10- Abranches, P., Silva-Pereira, M.C.D., Conceicao-Silva, F.M., Santos-Gomes, G.M., Janz, J.G., (1991): Canine Leishmaniosis pathological and ecological factors influencing transmission of Infection. *Journal of Parasitology*. 77, 557-61.
- 11- Ashford, D.A., Badaro, R., Eulalio, C., Freire, M., Miranda, C., Zalis, M.G., David, J.R., (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. *American Journal of Tropical Medicine Hygeian*. 48, 1-8.
- 12- Edrissian, Gh., Ahanchin, H., Gharachahi, A. M., (1993): Seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis and search for animal reservoirs in fars province. *Southern Iran. Iranian Journal of Medicine Science*. 18 (3, 4), 99-105.
- 13- Edrissian, Gh.H., Nadim, A., Alborzi, A.V., Ardehali, S., (1999): Visceral leishmaniasis: the Iranian experiences. *Archive of Iranian Medicine*. 1, 22-6.
- 14- Fallah, E. Farshchian, M., Mazlomi, A., Majidi, j., Kusha, A., Mardí, A., Mahdi poorzareh, N., (2006): Study on the prevalence of visceral leishmaniasis in rodents of Azarshahr district (New focus), North West of Iran. *Archive of Razi Institute*. 61. 7, 27-33.
- کانون آندمیک کالا آزار در استان قم و بررسی سرواپیدمیولوژی عفونت لیشمانیایی احشایی در انسان و مخازن حیوانی (سگ) این منطقه، ارمنان دانش بهار، ۹(۳۳)، ۴۳-۵۲.
- ۳- فرشچیان، م. (۱۳۸۰): تعیین و مطالعه مخازن لیشمانیوز احشایی در منطقه آذرشهر استان آذربایجان شرقی در سال ۸۳-۸۲، پایان نامه برای اخذ درجه فوق لیسانس انگل شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، صفحه ۳۱-۴۹-۳۰۳۹.
- ۴- فلاح، ا. (۱۳۷۷): تهیه واکسنهای اتوکلاو شده لیشمانیا اینفانتوم و لیشمانیا میجر و ارزیابی آن جهت کنترل لیشمانیوز احشایی در سگها، پایان نامه جهت دریافت درجه دکتری در رشته انگل شناسی پزشکی از دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، به شماره ۳۰۰۸.
- ۵- محبعلی، م.، بهمن، ر.خ.، موسوی فر، ا. (۱۳۷۶): مطالعه انگل شناسی و هیستوپاتولوژی لیشمانیوز احشایی در تعدادی از سگهای شهرستان مشکین شهر، پژوهش و سازندگی. شماره ۳۷، سال ۱۰، جلد ۴، صفحه ۱۲۵-۱۲۲.
- ۶- محبعلی، م. (۱۳۷۵): بیماریهای مشترک تک یاخته‌ای مشترک بین انسان و حیوانات، چاپ اول - نشر هادی صفحه ۵۱-۴۷.
- ۷- محبعلی، م.، فلاح، ا.، جمشیدی، ش.، حجاران، ه. (۱۳۸۰): ارزیابی روش سروولوژی الیزا با استفاده از آنتی ژن فیگوره در تشخیص آزمایشگاهی عفونت لیشمانیوز احشایی سگ، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۳، صفحه ۳۲-۲۹.

- 15- Gradoni, L.M., (1995): Canine reservoir of zoonotic visceral leishmaniosis in the Mediterranean area. *Epidemiology and control. Information Circular, WHO Mediterranean Zoonoses Control Center, Greece.*
- 16- Godal, T., Ozcel, A., Alkan, M.Z., (1996): New dimension for parasitology in the 21st century. In: (eds) *parasitology for 21st century*, CAB International . 1-13.
- 17- Gavvani, A.S., Mohite, H., Edrissian, G.H., Mohebbali, M., Davies, C.R., (2002): Domestic dog ownership in Iran is a risk factor for human infection with *Leishmania infantum*. *American Journal of Tropical Medicine Hygeian.* 67(5), 511-5.
- 18- Hasibeder, G., Dye, C., Carpenter, J., (1992): Mathematical modeling and theory for estimating the basic production number of canine leishmaniosis. *Parasitology.* 105,43-53.
- 19- Handemir, E., Oncel, Z., Kamburgil, T., (2004): Seroprevalence of visceral Leishmaniasis in stray Dogs in Istanbul. *Turkish Parasitology Derngy.* 28(3), 123-125.
- 20- Harris, E., Kropp, G., Belli, A., Rodrigues, B., (1998): Step multiplex PCR assay for characterization of new world leishmania complexes. *Journal of clinical microbiology.* 36,1989-95.
- 21- Khorshidian, S., Hajjaran, H., Sarkissian, M. T., Edrissian, Gh. H., (1994): Evaluation of ELISA, using intact promastigotes as antigen, for diagnosis of visceral leishmaniasis. *Iranian Journal of Medicine Science.* 19, (1, 2), 15-18.
- 22- Mohebbali, M., Fallah, E., Hajjaran, H., (1998): Vaccine trial against Canine Visceral leishemianiasis in the Islamic Republic of Iran. *East Mediterranean Hygeian Journal.* 4(2), 234-38.
- 23- Mohebbali, M., Poormohammadi, B., Kanani, A., Hajjaran, H., Edrissian, G.H., (1998): Rodents another group of animal hosts of visceral leishmaniasis in Meshkin Shahar district, Islamic Republic of Iran. *WHO Mediterranean Oriental.* 4, 376-378.
- 24- Mohebbali, M., Hajjaran, H., Hamzavi, Y., Mobedi, I., Arashi, S., Zarei, Z., Akhoundi, B., Naeini, K.M., Avizhe, R., Fakhari, M., (2005): Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniosis in the Islamic Republic of Iran. *Veterinary Parasitology.* 129, 243-251.
- 25- Mancianti, F., Falcone, M.L., Giannelli, C., Poli, A., (1995): Comparison between and enzyme-linked immunosorbent assay using a detergent-soluble *Leishmania infantum* antigen and indirect immunofluorescence for the diagnosis of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology.* 59, 13-21.
- 26- Mohebbali, 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, *Medicine Journal of Islamic Republic Iran.* 15, 243-46.
- 27- Moshfe, A., Mohebbali, M., Edrissian, G.H., Zarei, Z., Akhoundi, B., Kazemi, B., Jamshidi, Sh., Mahmoodi, M., (2008): Seroepidemiological Study on Canine Visceral Leishmaniasis in Meshkin-Shahr District, Ardabil Province, Northwest of Iran during 2006-2007. *Iranian Journal of Parasitology.* 3 (3), 1-10.
- 28- Molina, R., Amela, C., Nieto, J., San-Andres, M., Gonzalez, F., Castillo, J.A., Lucientes Alvar, J., (1994): Infectivity of dogs naturally infected with *Leishmania infantum* to colonized *Phlebotomus perniciosus*. *Transmeted Royal Society Tropical Medicen Hygeian.* 88,491-3.
- 29- Ozensoy, T. S., Korkmaz, M., Balcioglu, C., Ozbek, Y., Ertabaklar, H., Rastgeldi, S., (2002): Karaburun va urla bolgasinde zoonotik visceral leishmaniasis. *Turkish Parasitology Derngy.* 26(3), 234-38.
- 30- Ozbek, Y., Oskam, L., Ozensoy, S., Turgay, N., Alkan, M.Z., Jaffe, C.L., Ozcel, M.A., (2000): A survey on canine leishmaniasis in western Turkey by parasite, DNA and antibody detection assays. *Acta Tropical.* 74, 1-6.
- 31- Ozensoy, T. S., Ertabakhar, H., Ozbek, Y., Balcioglu, c., Yildizli, N., Ziya Alkan, M.,

- (2005): Seroprevalence of canine visceral leishmaniasis in kusadasi- Turkey. Turkish Journal of Veterinary Animal Science. 29, 23-26.
- 32- Palatnik-de-Sousa, C.B., dos Santos, W.R., Franca_Silva, J.C., Dacosta, R.T., Reis, A.B., Palatnik, M. W., Genaro, O., (2001): Impact of canine control on the epidemiology of canine and human visceral leishmaniasis in Brazil. American Journal of Tropical Medicine Hygeian. 65, 510.
- 33- Ozbel, Y., Okcam, L., Osansoy, S., Turgay, N., Alkan, M.Z., Jaffe, L., Ozcel, M.A., (2000): A survey canine leishmaniasis in western Turkey by parasitic DNA and antibody detection assay. Acta tropical. 14:1-6.
- 34- Sideris, V.L., Karagouni, E., Papadoupoulou, G., Garifallou, A., Dotsika, E., (1996): Canine visceral leishmaniosis in the great Athens area, Greece. Parasite 3: 125-30.
- 35- Sharifi, I., Daneshvar, H., (1994): The prevalence of visceral leishmaniasis in suspected canine reservoirs in southern Iran. Iranian Medical Science. 21 (3, 4), 130-34.
- 36- Solano-Gallego, L., Morell, P., Arboix, M., Alberola, J., Ferrer, L., (2001): Prevalence of Leishmania infantum infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. Journal of Clinical Microbiology. 39, 560-63.
- 37- Soleimanzadeh, G., Edrissian, Gh., Nadim, A., (1997): Clinical aspects of kala-azar in Meshkin-Shahr, Germi and Moghan districts from Ardabil province. Journal of Medicine Council Islamic Republic Iran . 5, 31-8.
- 38- Taran, M., Mohebbali, m., Modaresi, M.H., Manishi, S., Mahamadi, M., Mojarad, M., (2007): Diagnosis of canine visceral leishmaniasis by ELISA using K39sub Recombinant Antigen. Iranian Journal of Publication Health .39. 2, 1-6.
- 39- Tesh, R., (1995): Control of zoonotic visceral leishmaniasis is it time to change strategies. American Journal of Tropical Medicine Hygeian. 57, 287-92.