

بررسی اپیدمیولوژی لیشمانیوز احشائی (کالآزار) در منطقه کردان از شهرستان ساوجبلاغ استان تهران

فرشته فقیه نائینی^۱، دکتر مهدی ممبعلی^۲، دکتر عزت الدین موادیان^۳

خلاصه

سابقه و هدف: متعاقب تشخیص قطعی لیشمانیوز احشائی در یک قلاده سگ نژاد دابرمین و جداسازی انگل لیشمانیا اینفانتوم از احشاء آن در منطقه کردان واقع در شهرستان ساوجبلاغ در سال ۱۳۷۴، مطالعات گسترده‌ای به منظور تعیین عفونت لیشمانیای احشائی در انسان و مخازن حیوانی (سگ) و نیز صید پشه خاکی‌ها به منظور تعیین گونه‌ها (از جمله ناقلین احتمالی)، اکولوژی، فعالیت فصلی و میزان خونخواری آنها از انسان و حیوانات در منطقه کردان انجام گردید.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی ۹۲۵ نمونه خون بچه‌های زیر ۱۰ سال و ۲۱ نمونه خون سگ‌های منطقه کردان جمع‌آوری شده به روش‌های آگلوتیناسیون مستقیم و لاتکس آگلوتیناسیون مورد آزمایش قرار گرفتند. همچنین در این مطالعه جمعاً ۲۰۹۰ عدد پشه خاکی از اماکن داخلی و خارجی منطقه کردان واغشت صید گردیدند.

یافته‌ها: یک نفر از بچه‌های مورد مطالعه به روش سرولوژی فوق مثبت و دارای علامت بالینی لیشمانیوز احشائی بود که تحت درمان اختصاصی با گلوکاتیم قرار گرفته و بهبود یافت. تعداد سه قلاده از سگ‌های تحت بررسی از نظر سرولوژی فوق مثبت و دارای آنتی بادی اختصاصی بر علیه لیشمانیا با عبارهای بیشتر از ۱:۳۲۰ بودند. همچنین در بین پشه‌های صید شده ۷ گونه به جنس فلبوتوموس و ۲ گونه به جنس سرزانتومیا تعلق داشتند. پشه خاکی‌های غالب در اماکن داخلی و خارجی فلبوتوموس مازور بودند. در مجموع ۳۵۶ عدد از پشه خاکی‌های صید شده تشریح شدند که در هیچ‌یک پروماستیگوت مشاهده نگردید.

نتیجه گیری و توصیه‌ها: در مجموع یک مورد انسان و سه قلاده سگ با استفاده از روش‌های سرولوژی مثبت تشخیص داده شدند. کالآزار در منطقه کردان کرج، اسپورادیک می‌باشد.

واژگان کلیدی: لیشمانیوز احشائی، اپیدمیولوژی

مقدمه

در انسان شود. لیشمانیوز احشائی در ایران یکی از زئونوزهای مهم انگلی به شمار می‌رود و تاکنون سگ، روباه، شغال (۲) و جوندگان آلوده به آن (۴،۳) از نقاط مختلف ایران گزارش شده‌اند. ناقل احتمالی این بیماری در ایران، گونه‌های مختلف پشه خاکی‌هایی از جنس فلبوتوموس می‌باشند (۵) و اپیدمیولوژی آن بر پایه تماس وسیع و گسترده میان ناقلین، مخازن حیوانی و انسان شکل می‌گیرد. در تاریخ

لیشمانیوز احشائی بیماری انگلی سیستمیک است که در بیش از ۴۷ کشور جهان گزارش گردیده است (۱). از نظر اپیدمیولوژی این بیماری به تیپ‌های هندی، آفریقائی و مدیترانه‌ای تقسیم می‌شود که تیپ مدیترانه‌ای آن دارای انتشار وسیعی بوده و در تمامی کشورهای خاورمیانه و جنوب اروپا دیده می‌شود. عامل اصلی کالآزار در ایران لیشمانیا اینفانتوم (*L. infantum*) است که می‌تواند موجب مرگ و میر

^۱ کارشناس ارشد، گروه حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۲ دانشیار (گروه انگل شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۳ استاد، گروه حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران

مواد و روش‌ها

این مطالعه مقطعی به مدت دو سال و به منظور تعیین عفونت لیشمانیای احشائی در انسان و مخزن حیوانی (سگ) و مطالعه بسر روی پشه خاکی‌های منطقه کردن از شهرستان ساوجبلاغ انجام گردید. روش نمونه‌برداری در انسان به شکل توتال بود که از تمامی بچه‌های زیر ۱۰ سال و ۲۱ قلاده از سگ‌های منطقه مذکور نمونه خون تهیه گردید.

الف- عفونت لیشمانیای احشائی در انسان و سگ

جهت تعیین عفونت در انسان و سگ ابتدا با استفاده از سوش سودانی لیشمانیا دونوانی (MHOM/Su/00/S-1) که قبلاً توسط دکتر هاریت به واحد تک یاخته‌شناسی دانشکده بهداشت و انسیتو تحقیقاتی بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران منتقل شده بود، به میزان لازم آنتی ژن آگلوتیناسیون مستقیم (۱۰) و لانتکس آگلوتیناسیون (۱۱) در آزمایشگاه لیشمانیوز واحد مذکور تهیه گردید.

جهت آزمایش ابتدا به کمک لانتکس استریل و لوله‌های میکروهماتوکریت از تمامی بچه‌های زیر ۱۰ سال منطقه کردن، حدود ۱۰۰ میکرولیتر خون تهیه گردید. پس از ثبت مشخصات کامل متغیرهای مستقل مورد مطالعه شامل سن، جنس، نوع آزمایش، علائم بالینی، محل زندگی و...، تمامی نمونه‌ها به آزمایشگاه مرکزی شهرستان ساوجبلاغ منتقل و سانتریفوژ شدند و پلاسماي آنها جهت آزمایشات سرولوژی به آزمایشگاه لیشمانیوز دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران منتقل گردیدند و به روش‌های DAT و LAT مورد آزمایش قرار گرفتند. جهت مطالعه سگ‌ها، از خون ورید سفالیک استفاده شده و بقیه مراحل به شرح فوق انجام گردید. در روش سرولوژی DAT عبارتهای بیشتر از ۱:۳۲۰۰ برای انسان و بیشتر از ۱:۳۲۰ برای سگ‌ها به همراه علائم بالینی از نظر کالآزار مثبت تلقی می‌گردید (۱۰). در روش LAT پس از مشاهده شدت آگلوتیناسیون در روی لام میکروسکوپی که از ۱ تا ۴ مثبت بر اساس شدت آگلوتیناسیون درجه‌بندی شده بود و عبارتهای بیشتر از ۱:۸ همراه با علائم بالینی، مثبت تلقی گردیدند. اساس هر دو روش DAT و LAT پدیده آگلوتیناسیون است که در DAT شاخص آنتی‌ژنی بر روی پیکره انگل و در LAT از آنتی‌ژن محلول انگل که روی ذرات لانتکس است، استفاده می‌گردد.

۷۴/۲/۶ نمونه‌ای از بافت غده لنفاوی یک قلاده سگ نر نژاد دابرمین که ۶ سال سن داشت جهت مطالعه تومورلنفوسارکوم به گروه پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ارسال گردید. در بررسی هیستوپاتولوژی، هیپرپلازی ماکروفاژها مشاهده گردید که درون آنها اجسام لیشتن به تعداد فراوان وجود داشت همچنین تعداد قابل توجهی نوتروفیل، پلازما سل و لنفوسیت دریافت مورد بررسی مشهود بود. به منظور بررسی سرولوژیک، نمونه سرمی به آزمایشگاه لیشمانیوز دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران ارسال شد که پس از انجام آزمایش به روش آگلوتیناسیون مستقیم آنتی‌بادی اختصاصی بر علیه لیشمانیوز با عیار بیشتر از ۲۰۴۸۰:۱ تشخیص داده شد. پس از کالبد شکافی حیوان و انجام آزمایشات انگل‌شناسی و بیوشیمیایی، انگل جدا شده لیشمانیا اینفانتوم تعیین گردید که دقیقاً همان سویه‌ای بود که قبلاً از انسان در ایران جدا شده بود. لیشمانیوز احشائی تاکنون از تمامی استانهای کشور به شکل اسپورادیک و در بعضی از مناطق استانهای اردبیل، آذربایجان شرقی، فارس و بوشهر به شکل آندمیک گزارش شده است (۶،۷). با توجه به تشخیص قطعی بیماری مذکور در یک قلاده سگ نر نژاد دابرمین شش ساله در منطقه کردن کرج که سابقه هیچ‌گونه جابجائی و مسافرت به مناطق آندمیک لیشمانیوز نداشت (۸)، تصمیم گرفته شد مطالعه گسترده‌ای از سال ۱۳۷۴ تا ۱۳۷۶ پیرامون وضعیت اپیدمیولوژیک لیشمانیوز احشائی در منطقه کردن انجام گیرد تا بدین ترتیب وضعیت بیماری مذکور در آن منطقه که در مجاورت شهر کرج واقع گردیده است تعیین گردد. از آنجائیکه روش‌های انگل‌شناسی شامل پونکسیون مغز استخوان، نمونه‌برداری از طحال و کبد و مشاهده اشکال آماستیگوت در گسترش تهیه شده، همچنین کشت آن در محیطهای آزمایشگاهی و تلقیح به حیوانات آزمایشگاهی حساس، برای تشخیص آزمایشگاهی لیشمانیوز احشائی در انسان و حیوان مخزن مشکل و وقت‌گیر بوده و در مواردی با وجود ابتلاء، یافتن انگل مقدور نیست، در این مطالعه از روش‌های سرولوژی آگلوتیناسیون مستقیم (DAT) و لانتکس آگلوتیناسیون (LAT) که آزمایش‌های حساس، اختصاصی، آسان و کم هزینه بوده و برای تشخیص و بررسی‌های سر اپیدمیولوژی نیز از اعتبار خاصی برخوردار می‌باشند (۹)، استفاده گردیده است.

ب - مطالعه بر روی ناقلین

پس از تهیه نقشه کامل و دقیق شهرستان ساوجبلاغ مناطق مورد نظر جهت جمع‌آوری پشه خاکی‌ها تعیین گردیدند. در این مطالعه از دو روش تله چسبان و تله نورانی به منظور صید پشه خاکی‌ها استفاده گردید. قبل از غروب آفتاب تعداد ۵۰ عدد تله چسبان (کاغذهای سفید آغشته به روغن کرچک به ابعاد ۱۵×۲۰ سانتی متر) در مکانهای داخلی (اتاق‌های مسکونی و راهروها) و خارجی (ارتفاعات، شکاف غارها و زیر تخته سنگ‌ها) نصب گردیدند و قبل از طلوع آفتاب روز بعد جمع‌آوری شدند. پشه خاکی‌های صید شده بوسیله تله چسبان پس از روغن‌گیری با استون به داخل الکل اتیلیک ۷۰٪ منتقل گردیدند. جهت مونته کردن پشه خاکی‌های صید شده از محلول پوری (صمغ عربی ۸ گرم، کلرال هیدرات ۷۰ گرم، گلیسرین ۵ سی‌سی، اسید استیک گلاسیال ۳ سی‌سی و آب مقطر ۱۰ سی‌سی) استفاده شد. آن گاه به کمک کلیدهای معتبر تشخیصی پشه خاکی‌های مذکور در آزمایشگاه حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، گونه آنها تعیین گردید. پشه خاکی‌های صید شده توسط تله‌های نورانی ابتدا بوسیله اسپراتور جمع‌آوری شده و پس از انتقال به درون لیوان و حمل آنها به آزمایشگاه حشره شناسی، مورد شناسائی قرار گرفتند.

یافته‌ها

۲۱ نمونه خون سگ‌های منطقه کردن جمع‌آوری شده و به روش‌های DAT و LAT مورد آزمایش قرار گرفتند که تعداد ۳ قلاده از سگهای تحت بررسی (۱۴/۲٪) به روش DAT دارای عیارهای بیشتر از ۱:۳۲۰ و روش LAT دارای عیارهای بیشتر از ۱:۱۶ بوده‌اند. لذا می‌توان گفت سگ‌های مورد نظر به عفونت لیثمانیوز احشائی مبتلا بودند. در ضمن جهت تعیین عفونت انسانی تعداد ۹۲۵ نمونه خون بچه‌های زیر ۱۰ سال منطقه کردن جمع‌آوری شده و همگی به روش DAT و LAT مورد آزمایش قرار گرفتند. در یک نفر از کودکان مورد مطالعه (۱/۱٪) که از منطقه سیبان دره بود روش DAT مثبت بوده و آنتی‌بادی اختصاصی بر علیه لیثمانیا با عیار بیشتر از ۱:۳۲۰ در فرد مذکور گزارش گردید. فرد مذکور مبتلا به تب، آنمی و بزرگی شکم بود که توسط پزشک معالج تحت درمان اختصاصی لیثمانیوز قرار گرفت و بهبود یافت. ۹۲۴ نفر از کودکان تحت بررسی از نظر سرولوژی کاملاً منفی بوده و فاقد هر گونه عیار آنتی‌بادی بر علیه لیثمانیا با هر دو

روش DAT و LAT بودند.

در بررسی حشره شناسی که از مرداد تا آبان سال ۱۳۷۵ و سپس در ادامه از اردیبهشت تا آبان سال ۱۳۷۶ در منطقه کردن و اغشت از شهرستان کرج انجام شد، وجود ۷ گونه از جنس فلپوتوموس و ۲ گونه سرزانتومیا در منطقه مشخص گردید.

در این بررسی جمعاً ۱۴۶۳ عدد پشه خاکی از اماکن داخلی و خارجی کردن و ۶۲۷ عدد پشه خاکی از اماکن خارجی اغشت صید گردید، که توزیع آنها در جدول شماره ۱ آمده است.

همانطوریکه قبلاً اشاره گردید فلپوتوموس مازور که یکی از ناقلین مهم احتمالی لیثمانیوز احشائی در ایران و سایر کشورها معرفی شده است با وفور نسبتاً قابل توجهی در اماکن خارجی کردن و اغشت و در اماکن داخلی کردن صید گردید.

در سالهای ۱۳۷۵ و ۱۳۷۶ جمعاً ۳۵۶ عدد پشه خاکی از نظر آلودگی به پروماستیگوت لیثمانیا تشریح گردیدند ولی نتیجه تشریح آنها منفی بود و در هیچیک از موارد فوق آلودگی طبیعی به انگل لیثمانیا دیده نشد.

جدول ۱: توزیع پشه خاکی‌های صید شده از منطقه کردن و اغشت (اعداد به صورت درصد آورده شده است

گونه	اماکن داخلی کردن	اماکن خارجی کردن	اماکن خارجی اغشت
P. major	۳۲/۵	۲۲/۷	۱۷
P. sergenti	۲۵/۹	۳۲/۲	۳۳/۳
P. alexandri	۱۶/۷	۱۹/۷	۱۵/۹
P. tobbi	۱/۹	۰/۱۴	-
P. papatasi	۱۷/۶	۰/۵۴	-
P. halepensis	-	۰/۳۶	۰/۵
P. jacusieli	-	۰/۳۶	-
S ⁺ . dentata	۲/۷	۱۳/۴	۳۰/۴
S. pawlowski	۲/۷	۱۰/۶	۲/۹

*Phlebotomus

**Sergentomyia

بحث

اصولاً لیثمانیوز احشائی (کالاآزار) در مناطق گرمسیر و تحت گرمسیری جهان به سه شکل آندمیک، اسپورادیک و یا اپیدمیک دیده می‌شود. در شکل آندمیک بالاترین میزان ابتلاء در کودکان سنین یک تا چهار ساله مشاهده می‌شود. پسرها تقریباً دو برابر دخترها به این

نفر از ۹۲۵ نفر کودکان زیر ۱۰ سال تحت بررسی، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که اشکال تحت بالینی نیز در منطقه وجود نداشته است. در پایان ذکر این نکته لازم است که با توجه به وفور قابل توجه فلپوتوموس ماژور در اماکن داخلی و خارجی منطقه کردان و اغشت از شهرستان ساوجبلاغ که به عنوان یکی از ناقلین عمده لیشمانیوز احشائی در بسیاری از مناطق آلوده جهان و از جمله مناطق جنوبی کشور شناخته شده است (۱۳) و عنایت به این موضوع که فعالیت فصلی پشه خاکی‌های صید شده شباهت به فعالیت فصلی این پشه خاکی‌ها با سایر مناطق ایران داشته است (۱۴)، بدلیل حضور سگ به عنوان مخزن و منبع آلودگی در منطقه، بایستی بروز کالآزار مدنظر مسئولین بهداشتی قرار گرفته و مراقبت‌های لازم در این مورد انجام پذیرد. انجام آموزش‌های لازم به پزشکان (به‌خصوص متخصصین اطفال) و اهالی منطقه در مورد شناخت هر چه بهتر این بیماری لازم و ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

بدینوسیله نویسندگان مقاله از رئیس و معاونت محترم بهداشتی شهرستان ساوجبلاغ، ریاست محترم واحد زئونوزهای اداره مدیریت بیماریها جناب آقای دکتر بدخشان هوشمند، آقای محسن محمدی کارشناس ارشد انگل شناسی، سرکار خانم هما حجاران مربی محترم و آقای اصغر کنعانی نوتاش کارشناس ارشد محترم دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، آقایان دکتر فرهنگ ساسانی و دکتر شهرام جمشیدی استادیاران محترم دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران که در انجام این پژوهش همکاریهای لازم را داشته‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

بیماری مبتلا شده و دوره کمون بسیار متغیر و از ده روز تا بیش از یک سال گزارش گردیده است. این بیماری با علائم بالینی بسیار متغیری همراه است. در فرم اسپورادیک معمولاً علائم بیماری در افراد غیربومی و یا دچار نقص ایمنی و در هر سنی مشاهده می‌گردد و ممکن است به اشکال حاد و یا مزمن در آید. در شکل اپیدمیک، افراد در هر سنی به بیماری حساس بوده و علائم بالینی بیماری معمولاً در جنس مذکر بیش از جنس مونث دیده می‌شود. در مواردی ممکن است اشکال کشنده و حاد بیماری نیز مشاهده گردد. اخیراً در بعضی از کشورها مانند برزیل، ایتالیا و کنیا اشکال تحت کلینیکی کالآزار گزارش شده که نسبت به اشکال بالینی ۵ به ۱ بوده است (۱۲).

مطالعه حاضر متعاقب تشخیص قطعی لیشمانیوز احشائی در یک قلاذه سگ نژاد دابرمین و جداسازی انگل لیشمانیا اینفانتوم از احشاء آن در منطقه کردان شهرستان ساوجبلاغ انجام شده است که طی آن ۹۲۵ نمونه خون کودکان زیر ۱۰ سال و ۲۱ نمونه خون سگ‌های صاحب‌دار منطقه کردان به روش‌های آگلوتیناسیون مستقیم و لاتکس آگلوتیناسیون مورد آزمایش قرار گرفتند. در مجموع یک مورد انسانی (۰/۱٪) و سه قلاذه سگ (۱۴/۲٪) با استفاده از روش‌های سرولوژی ذکر شده مثبت تشخیص داده شدند. از آنجائیکه کودک مبتلا دارای علائم تبییک کالآزار شامل تب، بزرگی شکم و کم خونی بوده و به درمان اختصاصی بخوبی پاسخ داده و کاملاً بهبود یافت، لذا می‌توان آنرا به عنوان یک مورد قطعی بیماری به حساب آورد و چنین نتیجه‌گیری نمود که مورد اخیر کالآزار در منطقه کردان، اسپورادیک بوده است. از آنجائیکه یکی از روش‌های تعیین اشکال تحت بالینی کالآزار استفاده از روش‌های سرولوژی است و این افراد علی‌رغم نداشتن علائم بالینی دارای عبارهای متفاوتی از آنتی‌بادی اختصاصی ضد لیشمانیا می‌باشند، لذا با توجه به عدم ایجاد هیچ عیاری از آنتی‌بادی ضد لیشمانیا در ۹۲۴

REFERENCES

- 1-Saul JSS. Canine visceral leishmaniasis in E Vora distict, Portugal. A sero-epidemiological study, Doctora thesis for receining Ph.D. degree in parasitology 1996;20.
- 2- Hamidi AN, Nadim A, Edrissian Gh, et al. Visceral leshmaniasis of jackals and dogs in northern Iran. *Tran R Soc Trop Med Hyg* 1982;76(6): 756-7.
- 3-Mohebali M, Nasiri-Kanari M, Kanani A, et al. *Cricetulus migratorius* (Gary hamster), another possible animal resevoir of Kala-Azar, in Meshkin-shahr. *Iran Journal of Public Health* 1995;24(3.4):31-4.
- 4-Mohebali M, Poormohammadi B, Kanani A, et al. Rodent: another group of animal hosts of visceral leishmaniasis in Meshkin-Shahr district. Islamic Republic of Iran. *Eastern Mediterrean Health Journal* 1998;4(2):376-8.
- 5-Rassi Y, Javadian E. Ecology of *P. Kandelakii*, the probable vector of visceral leishmaniasis in north-west of Iran. 10th International Congress of Parasitology. (ICOPA), 1998;Tokio, Japan.

- 6-Edrissian Gh, Nadim A, Alborzi A, et al. Visceral leishmaniasis :the Iranian experiences . *Arch Iran Medical Journal* 1998;1(1):22-6.
- 7-Mohebalı A, Hamzavi Y, Edrissian Gh. Epidemiological study of visceral leishmaniasis in Dashti & Dashtestan disticts . Busher province, south of Iran. *Eastern Mediterrean Health Journal* (In press).
- ۸- ساسانی ف، جمشیدی ش، محبعلی م . گزارش وقوع مواردی از لیشمانیوز احشائی سگ در منطقه کردان کرج. دومین کنگره سراسری بیماری ننگلی، تهران، ۳۰-۲۷ مهرماه ۱۳۷۶.
- ۹- محبعلی م، محمدی م. تهیه آنتی ژن لاتکس آگلوتیناسیون، ارزشیابی تکنیکی آن در مقایسه با روش های سرولوژیک ELISA, IFA و DAT به منظور تشخیص و بررسی سرواپیدمیولوژی لیشمانیوز احشائی . *مجله دانشکاه علوم پزشکی کرمان*، ۱۳۷۶؛ دوره پنجم، شماره ۱، صفحات ۲۳-۱۷.
- 10- Harith AE, Kolk AH, Kager PA. Simple and economical direct agglutination test for serodiagnosis and seroepidemiological studies for visceral leishmaniasis. *Tran R Soc Trop Med Hyg* 1986;80(4):583-7.
- 11- Cummins AJ, Moody AH, Lalloo K, et al. Development of a rapid latex agglutination test for the detection of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994;88(3):300.
- 12- Technical report series WHO expert Committee Control of the leishmaniasis . 793, 10-11, 1990.
- ۱۳- سحابی ز، سیدی رشتی م ع، ندیم الف و همکاران. گزارش مقدماتی درباره آلودگی طبیعی فلبوتوموس میجر در یک کانون لیشمانیوز احشائی فارس-جنوب ایران. *مجله بهداشت ایران*، شماره بیست و یکم، ۱۳۷۱.
- ۱۴- رائی ن، جوادیان ع، ندیم الف و همکاران. بررسی آلودگی طبیعی پشه ها به پروماستیگوت و اولین گزارش آن در گونه سرژنتونیا دنتاتا در استان اردبیل. *مجله بهداشت ایران*، شماره ۲۶، ۱۳۷۶.