تعیین نوع لیشمانیوز جلدی در بیماران، مخازن و ناقلین به روش RAPD-PCR، در شهرستان آران و بیدگل، استان اصفهان طی سال‌های ۸۶-۱۳۸۵

عباس درودگر [۱*]، مهدی آسمار [۲]، محمدرضا رضوی [۳]، مسعود درودگر [٤]

خلاصه

سابقه و هدف: ایران به عنوان یکی از کانون‌های مهم لیشمانیوز جلدی روستایی شناخته شده است. این بیماری در نقاط مختلف استان اصفهان به صورت آندمیک مشاهده می‌شود. شهرستان آران و بیدگل از جمله این مناطق است که موارد زیاد مبتلایان به لیشمانیوز جلدی در آن مورد توجه مسئولان بهداشتی کشور قرار گرفته است. این مطالعه به منظور شناسایی نوع لیشمانیوز جلدی بیماران، گونه انگل مولد آن در انسان، جوندگان مخزن و پشه‌خاکی‌های ناقل در سال‌های ۸٦-۱۳۸۵ در شهرستان آران و بیدگل صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه با طراحی مقطعی بر روی ایزوله‌های انسانی مبتلا به لیشمانیوز جلدی که به مراکز بهداشتی آران و بیدگل مراجعه کرده بودند، جوندگان و پشه‌خاکی‌های صید شده از منطقه‌ی مورد مطالعه صورت گرفت. تشخیص عفونت انسانی با نمونه برداری از زخم بیمار و نمونه‌برداری از لبه خارجی گوش جونده و تشریح پشه‌خاکی صورت گرفت و انگل‌های جدا شده در محیط NNN کشت داده شد. DNA انگل انسانی، جونده و پشه‌خاکی استخراج و با روش RAPD-PCR تعیین هویت شد. انگل‌های *لیشمانیا ماژور* جدا شده از انسان، جونده و پشه‌خاکی پس از تلقیح در قاعده دم موش BALB/c، ٤ تا ۱۲ هفته بعد ایجاد زخم نمودند، ولی ایزوله‌های انسانی *لیشمانیا تروپیکا* در محل تلقیح به موش هیچ گونه زخمی ایجاد نکردند. اطلاعات مربوط به واحدهای پژوهش (بیماران، مخازن و ناقلین) پس از طبقه‌بندی با آمار توصیفی و درصد فراوانی گزارش و باندهای محصول PCR با سوش‌های استاندارد و مارکر مقایسه شد.

نتایج: RAPD-PCR نشان داد که ۷۱/٤ درصد ایزوله‌های انسانی، *لیشمانیا ماژور* و ۲۸/٦ درصد *لیشمانیا تروپیکا* بود و از بین جوندگان صید شده، ۱۷/۸ درصد *رومبومیس اوپیموس*ها آلوده به *لیشمانیا ماژور* بودند. با استفاده از این روش ۱/۹درصد پشه‌خاکی‌های *فلبوتوموس پاپاتاسی* ماده خونخورده نیز آلوده به *لیشمانیا ماژور* تشخیص داده شدند.

نتیجه‌گیری: آزمایشات مولکولی نشان داد که انگل ایزوله‌های انسانی، مخازن و ناقلین، *لیشمانیا ماژور* و بیماری از نوع روستایی است. با توجه به نقش *R. opimus* به عنوان مخزن اصلی و مهم بیماری، کنترل این جونده را به منظور کاهش بیماری در منطقه پیشنهاد می‌نماید.

واژگان کلیدی: لیشمانیوز جلدی، RAPD-PCR، پشه‌خاکی، رومبومیس، انسان، آران و بیدگل

۱- مربی گروه انگل شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان

۲- استاد بخش انگل شناسی انستیتو پاستور ایران

۳- استادیار بخش انگل شناسی انستیتو پاستور ایران

٤- فارغ التحصیل دوره پیش دانشگاهی دبیرستان الغدیر کاشان

* **نویسنده مسوول:** عباس درودگر

آدرس: کاشان، کیلومتر ۵ بلوار قطب راوندی، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی

پست الکترونیک: adoroudgar@kaums.ac.ir

تلفن: ۰۰۲۱ ۵۵۵ ۰۳٦۱

دورنویس: ۱۱۱۲ ۵۵۵ ۰۳٦۱

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۲/۱۸

تاریخ پذیرش نهایی: ۸۸/٤/۲۷

مقدمه

لیشمانیوز جلدی توسط گونه‌های انگل *لیشمانیا* که متعلق به کمپلکس *لیشمانیا تروپیکا* می‌باشند، ایجاد شده و بوسیله پشه‌خاکی‌ها انتقال می‌یابد [۳-۱]. این بیماری در بسیاری از کشورهای گرمسیر و نیمه‌گرمسیر دنیا وجود دارد. اما ۹۰ درصد موارد بیماری در کشورهای افغانستان، برزیل، ایران، پرو، عربستان و سوریه دیده می‌شود [۱]. شیوع لیشمانیوز جلدی در ایران تقریبا ۲۸ در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر جمعیت تخمین زده می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

سالانه در حدود ۲۰۰۰۰ مورد لیشمانیوز جلدی در قسمت‌های مختلف ایران تخمین زده می‌شود که تعداد واقعی آن بیش از این است [٤]. استان اصفهان یکی از کانون‌های مهم بیماری است. در حال حاضرکانون‌های لیشمانیوز جلدی متعددی در این استان وجود دارد. این کانون‌ها در سال‌های گذشته محدود بوده ولی افزایش جمعیت، گسترش شهرها، احداث شهرک‌ها و ایجاد مناطق مسکونی در نزدیکی محل زندگی جوندگان مخزن بیماری، باعث بوجود آمدن این کانون‌ها و تغییر وضعیت بیماری در استان شده است. در حال حاضر این بیماری در شهرهای اصفهان، نطنز، اردستان، بادرود، کاشان، آران و بیدگل یک معضل بهداشتی است [۱۱-۵]. در مناطق مرکزی و شمال شرقی ایران، مخزن اصلی بیماری *Rhombomys opimus* است. آلودگی این جونده به *لیشمانیا ماژور* اولین بار در سال ۱۳۳۲ در شمال شرقی ایران گزارش شد [۱۲] و بر اساس مطالعات انجام شده، ٦۰ درصد *رومبومیس‌های* صید شده در اطراف اصفهان، ٦٤ درصد در لطف آباد، ۱۰۰درصد در اسفراین و ٦٤/۸ درصد در بکران شاهرود عفونت *لیشمانیائی* داشتند [۱۳]. در غرب و جنوب غرب کشور، *Tatera indica* مخزن بیماری می‌باشد. همچنین، *Meriones libycus* در نقاطی که *Rhombomys* آلوده است، به عنوان مخزن فرعی حائز اهمیت می‌باشد [۱٦،۵-۱٤]. در منطقه بادرود نطنز (استان اصفهان) جوندگان *M. libycus* و *R. opimus* مخازن اصلی بیماری معرفی شده‌اند [۱۳]. آلودگی *لیشمانیایی* در جونده *Meriones libycus* دراصفهان و بادرود نطنز به ترتیب برابر ۱٦ درصد و ۲۵ درصد می‌باشد [۱۷،۱۳]. در روستاهای شهرستان آران و بیدگل مخزن اصلی بیماری *R. opimus* می‌باشد و میزان آلودگی در این جونده ۳۱/۵ درصد می‌باشد و این درحالی است که *M. libycus* فاقد آلودگی است [۱۸]. پشه‌خاکی *Phlebotomus papatsi* یکی از ناقلین شناخته شده *L. major* در کانون‌های لیشمانیوز جلدی روستایی در ایران است. این پشه‌خاکی در کانون هیپرآندمیک اصفهان ناقل اصلی بیماری می‌باشد [۱۹]. در مطالعه انجام شده در شهرستان‌های کاشان و آران و بیدگل پشه‌خاکی *Ph. Papatsi* بیشترین فراوانی (٦۲ درصد) را در بین سایر پشه‌خاکی‌های صید شده از اماکن مسکونی و لانه جوندگان داشت [۲۰]. امروزه روش‌های مولکولی به عنوان روشی معتبر برای تشخیص و تعیین هویت انگل‌های *لیشمانیا* در مطالعات اپیدمیولوژیک پذیرفته شده است. در مطالعه انجام شده بر روی ایزوله‌های انسانی در مشهد، RAPD-PCR نشان داد که ۹٤/۲ درصد و ۵/۸ درصد انگل‌های ایزوله شده از بیماران به ترتیب *L. tropica* و *L. major* می‌باشد [۲۱]. یک مطالعه مولکولی انجام شده بر روی پشه‌خاکی‌ها و جوندگان صید شده در منطقه کلاله (استان گلستان) نشان داد که ۰/۳ درصد پشه‌خاکی‌ها و ۳۷/۵ درصد *رومبومیس‌ها* آلوده به *L. major* بودند [۲۲]. در مطالعه مولکولی انجام شده بر روی جونده *Tatera indica* در خرامه شیراز، این جونده آلوده به *L. major* تشخیص داده شد [۲۳]. در مطالعه انجام شده به منظور شناسایی گونه‌های عامل لیشمانیوز پوستی به روش RAPD-PCR در شهرستان نیشابور، انگل جدا شده از ۵۷ بیمار مبتلا به لیشمانیوز جلدی *L. tropica* تشخیص داده شد [۲٤]. با توجه به اهمیت بیماری و گزارشات متفاوتی که در زمینه ایزوله‌های لیشمانیایی در دسترس می‌باشد، در این مطالعه از روش RAPD-PCR به منظور شناسایی نوع لیشمانیوز جلدی بیماران، گونه انگل مولد آن در انسان، جوندگان مخزن و پشه‌خاکی‌های ناقل در شهرستان آران و بیدگل طی سال‌های ۸٦-۱۳۸۵ استفاده شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه با طراحی مقطعی روی ۱٤ ایزوله‌ی انسانی، ۵٤ سر جونده و ۱۵۳۱ پشه‌خاکی صید شده از منطقه مورد مطالعه صورت گرفت. مطالعات انسانی بر روی بیماران مبتلایی که به مراکز بهداشتی درمانی شهرستان آران و بیدگل (شامل مناطق شهری شهرستان و مناطق روستایی ابوزیدآباد، محمدآباد، ریجن و حسین‌آباد) مراجعه کرده بودند، انجام شد. از ضایعات جلدی بیماران مبتلا به لیشمانیوز جلدی با استفاده از واکسیناستیل (Vaccinostyle) و از حاشیه زخم بیماران نمونه جدا و به وسیله متانول خالص فیکس شد. پس از رنگ‌آمیزی با گیمسا مطالعه میکروسکوپی صورت گرفت. در صورت مشاهده جسم لیشمن، نمونه مثبت تلقی می‌شد و در محیط کشت NNN اقدام به کشت انگل می‌شد. طی ماه‌های پاییز ۸۵ و بهار و تابستان ۸٦ در اطراف روستاهای آلوده، با استفاده از تله‌های زنده‌گیر (Live-Trap) اقدام به صید جونده شد. در آزمایشگاه انگل‌شناسی جنس و گونه جونده با استفاده از کلید تشخیصی تعیین گردید [۲۵] و پس از شستشو و ضدعفونی گوش‌ها، حد فاصل سطح داخلی و خارجی گوش سمباده زده شد [۲٦] و از سروز خارج شده به روی لام میکروسکوپی گسترش نازک تهیه گردید. پس از فیکساسیون و رنگ‌آمیزی با گیمسا، مطالعه میکروسکوپی صورت گرفت. در صورت وجود جسم لیشمن در نمونه‌های مستقیم، اقدام به کشت سروزیته گوش جونده در محیط کشت NNN گردید. هر دو هفته یک بار در ماه‌های مرداد و شهریور با استفاده از تله‌چسبان

Archive of SID

www.SID.ir

(Sticky Paper)، آسپیراتور (Hand Capture) و تله‌های قیفی از اماکن داخلی و خارجی (شکاف دیوارها و لانه جوندگان) اقدام به صید پشه‌خاکی شد. در آزمایشگاه با استفاده از کلید تشخیصی [۲۷] جنس و گونه پشه‌خاکی‌ها مشخص شده و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی در زیر لوپ تشریح شدند. در صورت وجود هرگونه جسم متحرک و تاژکدار، مقداری از آن به محیط کشت NNN وارد شده و مقداری نیز به قاعده دم موش‌های BALB/c تلقیح گردید. در صورتی که پشه‌خاکی آلوده به *L. major* بود، موش‌ها پس از ۱۲-٤ هفته به لیشمانیوز جلدی مبتلا شدند. از محل زخم آن‌ها نمونه‌برداری کرده و پس از مشاهده جسم لیشمن در زیر میکروسکوپ، در شرایط استریل اقدام به کشت می‌شد. محیط‌های کشت تهیه شده از زخم انسان، جونده و پشه‌خاکی در حرارت ۲٤-۱۸ درجه سانتیگراد قرار گرفته و به طور مرتب مورد بررسی قرار گرفت. برای به دست آوردن مقدار مناسب DNA، انگل‌ها به کشت انبوه رسانده شد. بدین منظور انگل به محیط کشت مایعی که شامل ٦۰ درصد محیط کشت اشنایدر و۳۰ درصد محیط کشت RPMI-1640 و نیز ۱۰ درصد سرم جنین غیرفعال (FBS) بود، منتقل گردید. از محیط‌های کشت حاوی انگل رسوب‌گیری شد و رسوبات باقی مانده سه بار در فسفات سالین سرد (PBS) با PH=۷/۲ شستشو داده شد و DNA از رسوب مورد نظر تخلیص گردید. DNA حاصل در آب یونیزه حل شد و تا انجام مراحل PCR در°c٤ نگهداری شد. هر ۲۰µL از واکنش RAPD حاوی ۲۰ ng DNA ژنومی، ۲۰mM $MgCl_2$، ۰/۲ mM dNTP (Roche Biotech)، pmol ۲۰ از هر پرایمر، ۱ u از Tag پلیمراز (Roche Biotech) در محلول بافر PCR بود. هر واکنش با ۳۰ µL روغن کانی پوشانده شده و پارامترهای حرارتی مربوط به ترموسایکلر (Techne USA) برنامه ریزی شده، یک سیکل ۵ دقیقه ای در °c٩٤ و بعد از آن سیکل °c٩٤ و °c٣٦ و °c٧٢ هر کدام به مدت ۱ دقیقه بود که سه مرحله اخیر به تعداد ۳۰ بار تکرار گردید و نهایتا یک سیکل ۱۰ دقیقه ای در °c٧٢ انجام شد. پس از پایان کار در ترموسایکلر، ۱۲µL از محصول PCR به همراه یک مارکر bp ۱۰۰ بر روی ژل آگارز ۱/۲درصد محتوی اتیدیوم بروماید در ۵۰ ولت به مدت ٤ ساعت قرار داده شد [۲۹،۲۸،۲۱]. در این مطالعه از دو پرایمر A4 و A8، A4:AATCGGGCTG و A8:GTGACGTAGG ساخت Roche Biotech استفاده شد و پرایمر A4 به عنوان پرایمر مطلوب و با داشتن الگوی باندی کاملا مشخص و یکنواخت جهت تفکیک گونه‌های *لیشمانیا* انتخاب گردید. سپس باندهای ایجاد شده توسط نمونه‌ها با باندهای ایجاد شده توسط گونه‌های استاندارد: *L. tropica* (MHOM/IR/IR/99) و *L. major* (MHOM/IR/75/ER) و *L. infantum* (MCAN/IR/97/LON 49) و مارکر مقایسه و نتایج جمع‌آوری گردید. اطلاعات مربوط به واحدهای پژوهش (بیماران، مخازن و ناقلین) پس از طبقه‌بندی با آمار توصیفی و درصد فراوانی گزارش شد و باندهای محصول PCR با سوش‌های استاندارد و مارکر مقایسه گردید.

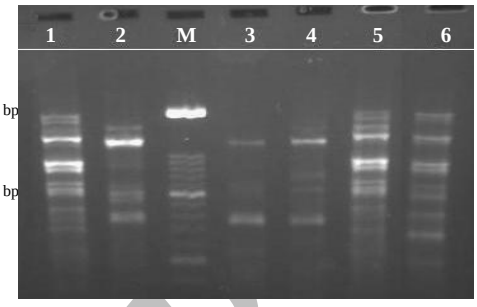
نتایج

از ١٤ مورد ایزوله انسانی مثبت، ٤ مورد (۲۸/٦درصد) به مناطق شناخته شده لیشمانیوز جلدی شهری کشور مسافرت کرده و به بیماری مبتلا شده بودند و بقیه در محل زندگی خود و بدون مسافرت به مناطق آلوده به بیماری مبتلا شده بودند. طی عملیات صید جونده، در مجموع ٥٤ سر جونده کوچک در ٤ جنس شناسایی شدند. جوندگان شامل: ٤٥ سر *رومبومیس اپیموس* (۸۳/۳ درصد)، ۵ سر *مریونس لیبیکوس* (۹/۳درصد)، ۲ سر *راتوس راتوس* (۳/۷درصد) و ۲ سر *ژربیلوس نانوس* (۳/۷ درصد) بودند. در نمونه‌های تهیه شده از سروزیته گوش ۸ سر رومبومیس (۱۷/۸درصد) جسم لیشمن مشاهده گردید و سایر جوندگان فاقد آلودگی بودند. در مجموع ۱۵۳۱ عدد پشه‌خاکی صید گردید. از این تعداد ۳۱۵ عدد از پشه‌خاکی‌های ماده خون خورده تشریح گردیدند که انگل ٦ پشه‌خاکی (۱/۹درصد) در محیط کشت رشد و تبدیل به پروماستیگوت شد. پس از شناسایی پشه‌خاکی‌های مثبت که همگی *فلبوتوموس پاپاتاسی* بودند، پروماستیگوت پشه‌های مثبت به محیط کشت منتقل شد و پس از تکثیر جهت آزمایشات مولکولی آماده شدند. همانطور که درتصویر ژل شماره ۱ مشاهده می‌شود چاهک M مربوط به مارکر، چاهک‌های شماره ۱ و ۲ به ترتیب سوش‌های استاندارد *L. tropica* و *L. major* و بقیه چاهک های مربوط به نمونه‌های انسانی مجهول می‌باشندکه با مقایسه نمونه‌های سوش‌های استاندارد تعیین هویت شدند. در مجموع از ١٤ DNA ایزوله انسانی مثبت و ناشناخته آزمایش شده با پرایمر A4 و مقایسه الگوی باندهای ایجاد شده توسط نمونه‌های استاندارد، ۱۰ مورد (۷۱/٤ درصد) *لیشمانیا ماژور* و ٤ مورد (۲۸/٦ درصد) *لیشمانیا تروپیکا* مشخص گردید. چاهک ۱ باندهای شاخص سوش *لیشمانیا تروپیکای* استاندارد در مقایسه با مارکر شامل طیفی از باندهای با اندازه حدود ۷۰۰bp تا ۲٤۰۰bp بود که دو باند با اندازه ۷۰۰kb و ۸۵۰kb مشخص داشت. چاهک شماره ۲ مربوط به سوش استاندارد *لیشمانیا ماژور* می‌باشد. این سوش نیز

Archive of SID

www.SID.ir

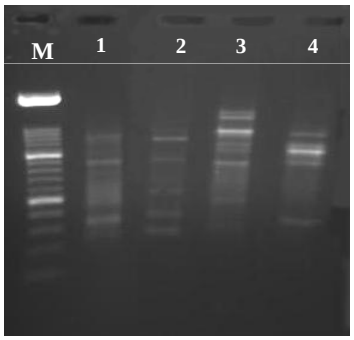
طیفی از باندها با اندازه حدود ۳۰۰bp تا حدود ۲٤۰۰bp ایجاد نمود. در این تصویر پروفایل تعدادی از ایزوله‌های ناشناخته با سوش‌های استاندارد مقایسه شده است و نشان می‌دهد، ایزوله‌های انسانی شماره ۵ و ٦ *لیشمانیا تروپیکا* و ایزوله‌های انسانی شماره‌های ۳ و ٤ *لیشمانیا ماژور* می‌باشد.



تصویر شماره ۱- نتایج روش مولکولی RAPD-PCR در چند ایزوله انسانی در شهرستان آران و بیدگل طی سال‌های ۸٦-۱۳۸۵

1= *L. tropica* (St) 2= *L. major* (St) M= *Marker (XIV 100 bp)* 3, 4= *L. major* 5, 6= *L. tropica*

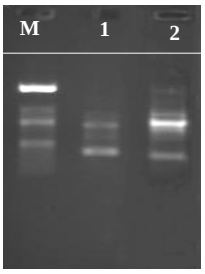
از بین جوندگان صید شده تنها ۸ سر *رومبومیس اوپیموس* (۱۷/۸درصد) از نظر پارازایتولوژی مثبت گردیدند. پس از الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگاروز، در تصویر ژل شماره ۲ الگوی باندهای هر ایزوله با پرایمر با الگوی باندهای سوش‌های استاندارد مقایسه شد و ایزوله‌های *لیشمانیای رومبومیس‌ها*، *لیشمانیا ماژور* تفکیک و تعیین گونه گردید.



تصویر شماره ۲- نتایج روش مولکولی RAPD-PCR دو ایزوله مربوط به *رومبومیس‌ها* در شهرستان آران و بیدگل طی سال‌های ۸٦-۱۳۸۵

M= Marker (XIV 100 bp) 3= *L. tropica* (St) 4= *L. major* (St) 1, 2= *L. major*

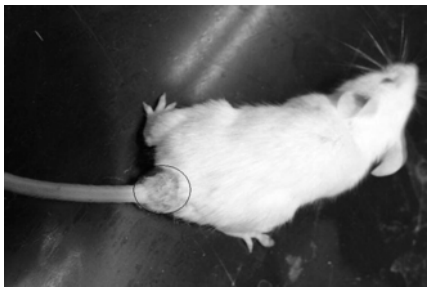
تصویر ژل شماره ۳ مربوط به الگوی باندهای حاصل از دو ایزوله از پشه‌خاکی‌ها می‌باشد. مقایسه الگوی باندهای حاصل از هر ایزوله با الگوی باندهای سوش استاندارد نشان دادکه ایزوله‌های *لیشمانیا* از پشه‌خاکی *فلبوتوموس پاپاتاسی*، *لیشمانیا ماژور* می‌باشد.



تصویر شماره ۳- نتایج روش مولکولی RAPD-PCR یک ایزوله مربوط به پشه‌خاکی در شهرستان آران و بیدگل طی سال‌های ۸٦-۱۳۸۵

1= Marker (XIV 100bp) 1= *L. major* 2= *L. major* (St)

ایزوله‌های انسانی، *رومبومیس اپیموس* و *فلبوتوموس پاپاتاسی* که با روش RAPD-PCR *لیشمانیا ماژور*تشخیص داده شدند، پس از تلقیح در قاعده دم موش BALB/c، بعد از ٤ تا ۱۲ هفته ایجاد زخم نمودند، ولی ایزوله‌های *L. tropica* در محل تلقیح هیچ‌گونه زخمی ایجاد نکرد.



تصویر شماره ٤- زخم ایجاد شده در قاعده دم موش BALB/c پس از تلقیح ایزوله‌های *L. major*

بحث

در مجموع از ۱٤ مورد ایزوله انسانی مثبت که با روش RAPD-PCR تعیین هویت شدند، ۱۰ مورد (۷۱/٤ درصد) *لیشمانیا ماژور* بود. این بیماران در محل زندگی خود به بیماری مبتلا شده بودند و هیچ گونه مسافرتی به مناطق آلوده لیشمانیوز جلدی روستایی کشور نداشتند. بنابراین لیشمانیوز جلدی شهرستان آران و بیدگل از نوع جلدی روستایی گزارش می‌گردد و این شهرستان به مناطق آلوده لیشمانیوز جلدی روستایی استان اصفهان اضافه می‌شود. شهرهای اصفهان، بادرود و اردستان [۸،۷،۵] نیز آلوده به لیشمانیوز جلدی نوع روستایی هستند. در مطالعه انجام شده توسط حجاران و همکاران در سال ۱۳۸۳ بر روی ایزوله‌های انسانی در مشهد، تکنیک RAPD-PCR نشان داد که ۹٤/۲ درصد و ۵/۸ درصد انگل‌های ایزوله شده از بیماران به ترتیب *L. tropica* و *L. major* می باشد [۲۱]. مهاجری و همکاران در سال ۱۳۸۷ با استفاده از روش RAPD-PCR به شناسایی گونه‌های عامل لیشمانیوز جلدی در

Archive of SID
www.SID.ir

شهرستان نیشابور پرداختند و انگل جدا شده از ۵۷ بیمار مبتلا به لیشمانیوز جلدی را *L. tropica* تشخیص و گزارش نمودند [۲٤]. مشهد و نیشابور از جمله کانون‌های لیشمانیوز جلدی نوع شهری می‌باشند [۱٤،٤]، ولی شهرستان آران و بیدگل در زمره کانون‌های لیشمانیوز جلدی نوع روستایی قرار می‌گیرد [۱۱]. با استفاده از تکنیک RAPD-PCR آلودگی طبیعی به انگل *لیشمانیا رومبومیس اوپیموس* *L. major* تایید شد و این جونده به عنوان مخزن اصلی و قطعی بیماری در شهرستان آران و بیدگل تعیین گردید. در اصفهان و منطقه بادرود نطنز این جونده به عنوان مخزن اصلی و ثانوی بیماری معرفی شده است [۱۷،۱۳]. این جونده در مناطق مرکزی و شمال شرقی ایران نقش مخزن اصلی را ایفا می‌کند [۳۰]. یافته‌های تحقیق نشان داد پشه‌خاکی *Ph. Papatasi* به طور طبیعی آلوده به *L. major* می‌باشد که به این ترتیب به عنوان ناقل اصلی بیماری در آران و بیدگل تعیین گردید. این پشه‌خاکی در دیگر نقاط استان اصفهان نیز ناقل قطعی سالک روستایی می‌باشد [۳۲،۳۱]. رائی و همکاران در سال ۱۳۸۷ با انجام مطالعه مولکولی بر روی پشه‌خاکی‌ها و جوندگان صید شده در منطقه کلاله (استان گلستان) نشان دادند که ۰/۳ درصد پشه‌خاکی‌ها و ۳۷/۵ درصد *رومبومیس‌ها* آلوده به *L. major* بودند [۲۲]. اصغری و همکاران در سال ۱۳۸٦ با انجام بررسی‌های مولکولی بر روی جوندگان *Tatera indica* در خرامه شیراز، این جونده را آلوده به *L. major* تشخیص دادند [۲۳]. بر اساس نتایج بررسی حاضر ناقل اصلی لیشمانیوز جلدی در منطقه *Ph. Papatasi* و مخزن اصلی و قطعی بیماری *Rhombomys opimus* می‌باشد. همچنین، بیماری موجود در شهرستان آران و بیدگل لیشمانیوز جلدی نوع روستایی است. اکنون که مشخص گردیده است لیشمانیوز جلدی موجود در شهرستان آران و بیدگل از نوع روستایی است، مسوولین امر باید در جهت کنترل جوندگان مخزن بیماری تدابیر لازم را بیاندیشند. همزمان با توجه به عادات زندگی و استراحت مردم منطقه، استفاده از پشه‌بند آغشته به حشره‌کش و آموزش صحیح از آن، می‌تواند به کاهش تماس ناقل- انسان کمک کرده و موارد بیماری را کاهش دهد. آموزش بهداشت، دفع بهداشتی زباله‌های خانگی، انتقال اماکن نگهداری دام‌ها به خارج از روستا، جلوگیری از انباشت کودهای دامی در نقاط مختلف روستا از مواردی است که باید حتما مد نظر مسئولین بهداشتی منطقه قرارگیرد. از نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان جهت تدوین برنامه جامع مبارزه با لیشمانیوز جلدی روستایی در مناطق آلوده آران و بیدگل استفاده نمود.

نتیجه‌گیری

لیشمانیوز جلدی موجود در شهرستان آران و بیدگل از نوع روستایی است و آلودگی بیش از ۷۰ درصد مبتلایان و همچنین مخازن و ناقلین به انگل *L. major* نشان دهنده ارتباط قطعی بین عوامل چرخه انتقال بیماری در شهرستان آران و بیدگل می‌باشد. با توجه به نقش *R. opimus* به عنوان مخزن اصلی و مهم بیماری، کنترل این جونده را به منظور کاهش بیماری در منطقه پیشنهاد می‌نماید.

References:

[1] Piscopo TV, Mallia Azzopardi C. Leishmaniasis. ***Postgrad Med J*** 2007;83(976):649-57.

[2] John DT, Petri WA. Markell and Voge's medical parasitology. 9th ed. St. Louis, Mo.: Saunders Elsevier; 2006. 127-31.

[3] Service MW. Medical entomology for students: Chapman & Hall:1996;95-103.

[4] Mohebali M. Zoonotic protozoa diseases. First Edition, Tehran, Nadi Press. 1996;74-6. [in Persian]

[5] Nadim A, Faghih M. The epidemiology of cutaneous leishmaniasis in the Isfahan province of Iran. I. The reservoir. II .The human disease. ***Trans R Soc Trop Med Hyg*** 1968;62(4):534-42.

[6] Zahraei-Ramazani AR, Yaghoobi-Ershadi MR, Mokhtari AR, Akhavan AA, Abdoli H, Arandian1 MH. Anthroponotic Cutaneous Leishmaniasis in Nonendemic Quarters of a Centeral City in Iran. ***Iranian J Publ Health*** 2007;36(2):7-11.

[7] Akhavan AA, Yaghoobi-Ershadi MR, Mohebali M. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Badrood area, Natanz County, Iran: Human infection. Abstract of the First Congress on Medical Entomology, Tehran, I.R. Iran, 1998;17-18. [in Persian]

[8] Yaghoobi-Ershadi MR, Hanafi-Bojd AA, Akhavan AA, Zahraei-Ramazani AR, Mohebali M. Epidemiological study in a new focus of cutaneous leishmaniasis due to Leishmania major in Ardestan town, central Iran. ***Acta Trop*** 2001;79:115-21.

[9] Yaghoobi-Ershadi MR, Akhavan AA, Zahraei-Ramazani AR, Javadian E, Motavali-Emami M. Field trial for the control of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Badrood, Iran. ***Ann Saudi Med*** 2000;20(5-6):386-9.

Archive of SID
www.SID.ir

[10] Doroodgar, A. Dehghani, R. Hooshyar, H. Sayyah, M. Study of Prevalence of Coetaneous Leishmaniasis in South east Part of Kashan (1995). ***Journal of Kerman University of Medical Sciences*** 1996;2(3):80-6. [in Persian]
[11] Doroudgar A, Dehghani R, Hooshyar H. Prevalence of Salak in Aran and Bidgol. ***The journal of Qazvin University of Medical Sciences & Health Services*** 1999;11:84-92. [in Persian]
[12] Seyedi-Rashti AM, Nadim A. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Iran B. Khorasan area part I: The reservoirs. ***Bulletin de la Societe de pathologie exotique*** 1970;5:10-4.
[13] Yaghoobi-Ershadi M.R. Akhavan AA, Mohebali M: Meriones libycus andRhombomys opimus (Rodentia: Gerbillidae) are the main reservoir hosts in a newfocus of zoonotic cutoneous leishmaniasis in Iran. ***Trans R Soc Trop Med and Hyg*** 1996;90(5),503-4.
[14]Ardehali S. Leishmania and Leishmaniases. Second Edition, Tehran, Nashre Daneshkahi Center Press 1994; 176-200. [in Persian]
[15] Javadian E, Nadim A, Tahvidare-Bidruni G, Assefi V. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Iran: B. Khorassan part V: Report on a focus of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Esferayen. ***Bull Soc Pathol Exot Filiales*** 1976;69(2):140-3.
[16] Javadian E, Dehestani M, Nadim A, Rassi Y, Tahvildar-Bidruni Gh, Seyedi Rashti MA, Shadmehr A. Confirmation of Tatera indica (Rodentia:Gerbillidae) as the main reservoir host of zoonotic cutaneous leishmaniasis in the west of Iran. ***Iranian J Publ Health*** 1998;27(1-2):55-60. [in Persian]
[17] Moebedy E, Fasihe Harandy M. Parasitic Zoonosis Survey of Campestral Rodents in North Part of Isfahan. Abstract Book of 2nd Congress of transmission Diseases between Human and Animals (Zoonosis). Tabriz, 1994;229. [in Persian]
[18] Doroodgar, A. Javadian, E. Dehghani, R. Hooshyar, H. Sayyah, M. Leishmanial Infection among Rodents in Kashan (1995). ***J KAUMS Feyz*** 1997;1(2):53-59. [in Persian]
[19] Yaghoobi-Ershadi MR, Javadian E, Tahvildare- Bidruni GH. Leishmania major MON-26 isolated from naturally infected Phlebotomus papatasi (Dip tera:Psychodidae) in Isfahan province, Iran. ***Acta Trop*** 1995;59(4):279-82.
[20] Doroodgar, A. Rasi, Y, Sadr, F. Sandflies Fauna in Cities of Kashan and Aran va Bidgol, 1990 To 2003. ISOPS-V Proceedings of the fifth international symposium on Phlebotomine sandflies Gammarth, Tunis, Tunisia, 2005.
[21] Hajjaran H, Mohebali M, Razavi MR, Majtabavi J, Hooshmand B. Identification of Leishmania Species Isolated from Human Cutaneous Leishmaniasis, using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD-PCR). ***Iranian Journal of Public Health*** 2004;33(4):8-15.
[22] Rassi Y, Sofizadeh A, Abai1 MR, Oshaghi1 MA, Rafizadeh S, Mohebail M, et al. Molecular Detection of Leishmania major in the Vectors and Reservoir Hosts of Cutaneous Leishmaniasis in Kalaleh District, Golestan Province, Iran. ***Iranian Journal of Arthropod-Borne Diseases*** 2008;2(2):21-7.
[23] Asgari Q, Motazedian M H, Mehrabani D, Oryan A, Hatam Gh R, Owji M, et al. Zoonotic cutaneous leishmaniasis in Shiraz, Southern Iran: A molecular, isoenzyme and morphologic approach. ***Journal of Researcher in Medical Sciences*** 2007;12(1):7-15
[24] Mohajery M, Hajjaran H, Shamsian AA, Tavakkol afshari J, Saedabady F. Identification of cutaneous leishmaniasis species by RAPD-PCR in Neishaboor city. ***Medical Journal of Mashhad University of Medical Sciences*** 2008;51(100):79-86. [in Persian]
[25] Etemad I. Mammals of Iran, Vol 1. (Rodents and Identification Key). Publication of national Society for Environmental Conversation, 1978. [in Persian]
[26] Edrissian GH, Zovein Z, Nadim A. A simple technique for preparation of smears from the ear of Rhombomys opimus for the detection of leishmanial infection. ***Trans R Soc Trop Med Hyg*** 1982;76(5):706-7.
[27] Rassi Y, Hanefi Bajd AA. Sandflies, vectors of leishmaniasis. Nowaverane Elm publisher, First Edition 2006;155-218. [in Persian]
[28] Mauricio IL, Howard MK, Stothard JR, Miles MA. Genomic diversity in the Leishmania donivani complex. ***Parasitology*** 1999;119:237-46.
[29] Noyes HA, Belli AA, Maingon R. Apprisal of various random amplified polymorphic DNA-Polymerase chain reaction primers for Leishmania identification. ***A m J Trop Med Hyg*** 1996;55(1):98-105.
[30] Rassi Y, Ghassemi M, Javadian E, Motazedian H, Rafizadeh S, Aghaie Afshar A, et al. Determination of Reservoir(s) and Vector(s) of Cutaneous Leishmaniasis by Nested-PCR in Marvdasht District, Fars Province, Southern Iran. ***Journal Kerman University of Medical Sciences*** 2007;14(2):134-9.
[31] Parvizi P, Mauricio I, Aransay AM, Miles MA, Ready PD. First detection of Leishmania major in peridomestic Phlebotomus papatasi from Isfahan province, Iran: comparison of nested-PCR of nuclear ITS ribosomal DNA and semi-nested PCR of minicircle Kinetoplast DNA. ***Acta Trop*** 2005;93(1):75-83.
[32] Yaghoobi-Ershadi MR, Javadian E, Tahvildare-Bidruni GH. The isolation of Leishmania major from Phlebotomus (Paraphlebotomus) caucasicus, in Isfahan province, Islamic Republic of Iran. ***Trans R Soc Trop Med Hyg*** 1994;88(5):518-9.

Archive of SID

www.SID.ir