

مقاله اصلی

سرو اپیدمیولوژی لیشمانیوز احشایی بدون علامت در کودکان مناطق روستائی استان های خراسان رضوی و خراسان شمالی

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۷/۰۱ - تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۹/۱۰

خلاصه

مقدمه

لیشمانیوز احشایی (کالاآزار) مدیترانه ای به عنوان یک بیماری اندمیک در میان کودکان استان خراسان شمالی شناخته شده است. روش تشخیصی سرولوژیک حساس و کم تهاجمی است. این مطالعه با هدف تعیین سرو اپیدمیولوژی موارد بدون علامت، در مناطق آندمیک خراسان انجام شد.

روش کار

بررسی حاضر یک مطالعه توصیفی مقطعی از نوع کاربردی است که روی ۴۴۲ کودک روستائی در سال ۱۳۹۴-۱۳۹۲ در دو استان خراسان رضوی و خراسان شمالی انجام شده است. همزمان با تکمیل پرسشنامه برای هر کودک، تست rK39 و DAT برای بررسی آلودگی به لیشمانیا اینفانتوم انجام شد. نتایج با نرم افزار SPSS پردازش گردید.

نتایج

تست DAT در ۵/۲۲٪ از کودکان دارای تیر مثبت بود. نتایج به دست آمده از تست rK39 حاکی از آن بود که هیچکدام از ۴۲۲ کودک به لیشمانیوز احشایی مبتلا نبودند. مقایسه میزان تست مثبت و منفی DAT در دو استان خراسان شمالی و رضوی نشان داد که از نظر میزان آلودگی به لیشمانیا میان دو استان تفاوت معنی دار است ($P < 0/005$).

نتیجه گیری

در مطالعه حاضر، با استفاده از تست DAT میزان ابتلا به عفونت بدون علامت لیشمانیوز در کودکان ۵/۲۲٪ می باشد که نشان دهنده وجود آلودگی به لیشمانیا اینفانتوم در منطقه است. میزان ابتلا به عفونت بدون علامت لیشمانیوز در خراسان رضوی بیشتر از خراسان شمالی می باشد. با وجود حساسیت بالای تست rK39 در تشخیص موارد آلوده به لیشمانیوز احشایی، مطالعه حاضر نشان داد این تست در ارزیابی عفونت بدون علامت لیشمانیوز کارایی لازم را ندارد. لذا استفاده از تست DAT برای تشخیص بهتر موارد بدون علامت توصیه می گردد.

کلمات کلیدی: خراسان رضوی، خراسان شمالی، سرواپیدمیولوژی، لیشمانیوز احشایی

پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می باشد.

سعید اشکانی فرا^۱

دکتر عبدالمجید فتی^{۱*}

دکتر اعلمی^۲

دکتر مهدی مجبعلی^۳

دکتر لیدا جراحی^۴

مهناز آماده^۱

بی بی راضیه حسینی فراش^۱ او^۱

۱- گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی،

دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۲- گروه کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی

مشهد

۳- گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده بهداشت،

دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۴- گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم

پزشکی مشهد.

* مرکز تحقیقات سالک- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم

پزشکی مشهد

تلفن: ۰۵۱۳۸۰۰۲۴۰۱

Email: FataA@mums.ac.ir

مقدمه

لیشمانیوز احشایی (کالاآزار) یا بیماری سیاه یک بیماری انگلی است که توسط گونه های مختلفی از تک یاخته ای به نام لیشمانیا ایجاد می شود و با علائم تب های طولانی، کم خونی، بزرگی طحال و کبد و تورم غدد لنفاوی و لاغری همراه است. این بیماری یک بیماری بالقوه کشنده است که در همه نقاط جهان قابل مشاهده است و در آن عامل بیماری و ناقل آن بسته به منطقه جغرافیایی متفاوت می باشد (۱).

لیشمانیوز احشایی در خاورمیانه و در برخی مناطق ایران به صورت آندمیک و در برخی مناطق به صورت انفرادی وجود دارد. این بیماری سالانه تعداد زیادی از افراد را که اکثر آن ها کودک می باشند، مبتلا می کند. کالاآزار انواع مختلفی دارد که نوع مدیترانه ای آن در ایران شایع می باشد (۲). کالاآزار نوع مدیترانه ای در کشورهای اطراف مدیترانه، جنوب اروپا، شمال آفریقا، خاور میانه، کشورهای قفقاز و آسیای مرکزی گزارش شده است. عامل اصلی کالاآزار مدیترانه ای لیشمانیا اینفانتوم است که در برخی موارد توسط لیشمانیا تروپیکا نیز منتقل می گردد (۲). لیشمانیا اینفانتوم به وسیله گونه خاصی از پشه خاکی از جنس فلبوتوموس منتقل می گردد. مخزن این انگل که بین حیوان و انسان مشترک است سگ سانان وحشی می باشند (۳).

کالاآزار به عنوان یک بیماری شایع در استان خراسان شمالی خصوصا در میان عشایر شناخته شده است. با این وجود تعداد کمی از افراد آلوده علائم بارز بیماری را به صورت تب، بزرگی طحال و کبد، کم خونی، نوتروپنی و زردی نشان می دهند و اکثر افراد بدون علامت باقی می مانند (۴). به علاوه، این بیماری می تواند با سایر بیماریهای خطرناک مانند عفونتهای نقص سیستم ایمنی مانند HIV همراه باشد (۵).

به طور کلی، از هر ۵۰ مورد آلودگی جدید در اثر گزش یکی منجر به کالاآزار می شود، به طوریکه عفونت بدون علامت شایع تر از کالاآزار است. برخی مطالعات نشان داده اند که حتی در مناطقی که مخزن کالاآزار سگ سانان می باشند افراد بدون علامت در زنجیره انتقال نقش دارند. بنابر این تعیین شیوع و انتشار موارد بدون علامت به شناسایی بهتر وضعیت کالاآزار و

روش های کنترل کمک می کند (۶، ۷).

بیماری کالاآزار دارای اشکال مختلف بالینی است و ابزار های مختلفی برای تشخیص آن وجود دارد. مشاهده مستقیم آماستیگوت ها در نمونه های بالینی استاندارد طلایی تشخیصی است که نیاز به مداخله تهاجمی اسپیراسیون بافتی و نیز مهارت تکنیکی دارد (۸). روش های سرولوژیک فوق العاده حساس و غیر تهاجمی می باشند. شناسایی آنتی ژن ها مثل روش rk39 حساسیت و ویژگی بالایی دارد که پی سی آر برای شناسایی دی ان آ حساسیت بین ۸۰ تا ۱۰۰٪ دارد. این تست براساس شناسایی آنتی ژنهای پیکره ای لیشمانیا که اساس آن ایمونوکروماتوگرافی بوده صورت می گیرد (۲).

با توجه به این مطلب که انگل لیشمانیا می تواند برای مدتها بدون علامت در بدن انسان باقی بماند و دیگر افراد در معرض با شخص آلوده در خط آلودگی قرار گیرند و همچنین با توجه به این مساله که تا بحال مطالعه گسترده ای برای بررسی میزان شیوع این انگل در مناطق شمال شرقی ایران صورت نگرفته است، مطالعه حاضر با هدف تعیین سرو اپیدمیولوژی موارد بدون علامت لیشمانیوز احشایی، در مناطق آندمیک خراسان رضوی و شمالی در سال ۹۳-۹۴ انجام شد.

روش کار

بررسی حاضر یک مطالعه توصیفی مقطعی از نوع کاربردی بود که بر کودکان ده روستای دو استان خراسان رضوی و خراسان شمالی انجام شد. نمونه مورد نظر با روش سهمیه ای از میان روستا های استان خراسان براساس نقشه انتشار بیماریهای مرکز بهداشت استان های خراسان شمالی و رضوی انتخاب شدند. حجم نمونه ۳۸۰ نفر برآورد شده که به دلیل افزایش توان مطالعه تعداد ۴۴۲ نمونه جمع آوری شد. شیوه گردآوری اطلاعات به صورت میدانی بود و برای گردآوری اطلاعات از چک لیست استفاده شد.

کودکان زیر ۱۲ سال که حداقل یک سال از سکونت آن ها در منطقه های مورد مطالعه می گذشت وارد این مطالعه شدند.

کودکان دارای علائم و نشانه های بالینی بارز کالاآزار مثل تب طولانی بیش از دو هفته، بزرگی طحال و ادم ژنرالیزه، کلیه افراد دارای سوء تغذیه، سابقه استفاده طولانی مدت از داروهای ایمنو ساپرسیو و یا سندرمهای نقص سیستم ایمنی که فاقد علائم بالینی بارز و یا دارای علائم غیر اختصاصی بودند از این مطالعه کنار گذاشته شدند. همچنین همه بیماران دارای سابقه بیماری کالاآزار، افراد مبتلا به بیماری های عفونی و بیماران بستری از این مطالعه حذف گردیدند. عدم رضایت بیماران برای همکاری در این طرح نیز دیگر معیار خروج از این مطالعه بود.

افراد با همکاری بهورز هر روستا شناسایی و جهت انجام نمونه گیری به خانه بهداشت هر روستا هدایت شدند. پس از تکمیل رضایتمانه و توضیح همه مراحل مطالعه، از همه افراد شرکت کننده نمونه خون (۵ سی سی خون) دریافت شد. پس از اخذ نمونه در محل، خون محیطی در تیوب های قرار داده شد و نمونه جهت جدا سازی سرم سریعاً به نزدیک ترین مرکز بهداشت منتقل گردید. پس از جدا سازی سرم ها، آن ها را فریز کرده و جهت انجام تست های DAT و rK39 به بیمارستان امام رضا (ع) مشهد منتقل گردید. چک لیست حاوی اطلاعات دموگرافیک و بالینی توسط مجریان طرح برای تمامی شرکت کنندگان بدون علامت تکمیل گردید. داده ها پس از جمع آوری وارد نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ گردید و سپس مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. از شاخص های مرکزی و پراکندگی و توزیع فراوانی برای توصیف داده ها استفاده شد.

افراد با همکاری بهورز هر روستا شناسایی و جهت انجام نمونه گیری به خانه بهداشت هر روستا هدایت شدند. پس از تکمیل رضایتمانه و توضیح همه مراحل مطالعه، از همه افراد شرکت کننده نمونه خون (۵ سی سی خون) دریافت شد. پس از اخذ نمونه در محل، خون محیطی در تیوب های قرار داده شد و نمونه جهت جدا سازی سرم سریعاً به نزدیک ترین مرکز بهداشت منتقل گردید. پس از جدا سازی سرم ها، آن ها را فریز کرده و جهت انجام تست های DAT و rK39 به بیمارستان امام رضا (ع) مشهد منتقل گردید. چک لیست حاوی اطلاعات دموگرافیک و بالینی توسط مجریان طرح برای تمامی شرکت کنندگان بدون علامت تکمیل گردید. داده ها پس از جمع آوری وارد نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ گردید و سپس مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. از شاخص های مرکزی و پراکندگی و توزیع فراوانی برای توصیف داده ها استفاده شد.

در این مطالعه دو تست DAT و rK39 به منظور بررسی احتمال ابتلا به انگل عامل لیشمانیوز احشایی روی همه شرکت کنندگان انجام شد (جدول ۲). نتایج به دست آمده از تست DAT حاکی از آن بود که ۴۰۰ نفر از این افراد از نظر مثبت یا منفی بودن آلودگی به انگل لیشمانیوز احشایی منفی بر آورد شدند و ۲۲ نفر از آن ها بر اساس این معیار به انگل لیشمانیا آلوده شده بودند. به این معنی که نتایج تست DAT در ۹۴٫۷۸٪ از این افراد منفی و در ۵٫۲۱٪ از آن ها مثبت بود. نتایج به دست آمده از تست rK39 حاکی از آن بود که همه ۴۲۲ شرکت کننده این مطالعه از نظر مثبت یا منفی

کودکان دارای علائم و نشانه های بالینی بارز کالاآزار مثل تب طولانی بیش از دو هفته، بزرگی طحال و ادم ژنرالیزه، کلیه افراد دارای سوء تغذیه، سابقه استفاده طولانی مدت از داروهای ایمنو ساپرسیو و یا سندرمهای نقص سیستم ایمنی که فاقد علائم بالینی بارز و یا دارای علائم غیر اختصاصی بودند از این مطالعه کنار گذاشته شدند. همچنین همه بیماران دارای سابقه بیماری کالاآزار، افراد مبتلا به بیماری های عفونی و بیماران بستری از این مطالعه حذف گردیدند. عدم رضایت بیماران برای همکاری در این طرح نیز دیگر معیار خروج از این مطالعه بود.

افراد با همکاری بهورز هر روستا شناسایی و جهت انجام نمونه گیری به خانه بهداشت هر روستا هدایت شدند. پس از تکمیل رضایتمانه و توضیح همه مراحل مطالعه، از همه افراد شرکت کننده نمونه خون (۵ سی سی خون) دریافت شد. پس از اخذ نمونه در محل، خون محیطی در تیوب های قرار داده شد و نمونه جهت جدا سازی سرم سریعاً به نزدیک ترین مرکز بهداشت منتقل گردید. پس از جدا سازی سرم ها، آن ها را فریز کرده و جهت انجام تست های DAT و rK39 به بیمارستان امام رضا (ع) مشهد منتقل گردید. چک لیست حاوی اطلاعات دموگرافیک و بالینی توسط مجریان طرح برای تمامی شرکت کنندگان بدون علامت تکمیل گردید. داده ها پس از جمع آوری وارد نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ گردید و سپس مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. از شاخص های مرکزی و پراکندگی و توزیع فراوانی برای توصیف داده ها استفاده شد.

در این مطالعه دو تست DAT و rK39 به منظور بررسی احتمال ابتلا به انگل عامل لیشمانیوز احشایی روی همه شرکت کنندگان انجام شد (جدول ۲). نتایج به دست آمده از تست DAT حاکی از آن بود که ۴۰۰ نفر از این افراد از نظر مثبت یا منفی بودن آلودگی به انگل لیشمانیوز احشایی منفی بر آورد شدند و ۲۲ نفر از آن ها بر اساس این معیار به انگل لیشمانیا آلوده شده بودند. به این معنی که نتایج تست DAT در ۹۴٫۷۸٪ از این افراد منفی و در ۵٫۲۱٪ از آن ها مثبت بود. نتایج به دست آمده از تست rK39 حاکی از آن بود که همه ۴۲۲ شرکت کننده این مطالعه از نظر مثبت یا منفی

نتایج

در کل ۴۲۲ نفر از کودکان حاشیه دو استان خراسان شمالی و خراسان رضوی وارد این مطالعه شدند. از میان کل شرکت کنندگان حدود ۴۸٫۵٪ پسر و ۵۱٫۴٪ دختر بودند (جدول ۱). در حدود ۴۸٫۹٪ از افرادی که تست DAT آن ها منفی شده بود پسر و ۵۱٫۱٪ از آن ها دختر بودند. همچنین ۴۰٫۹٪ از افرادی که تست DAT آن ها مثبت شده بود پسر و ۵۹٫۱٪ آن ها دختر بودند. در کل میانگین و انحراف استاندارد سنی افراد شرکت کننده در این مطالعه ۶٫۳۴±۲٫۳۶ بود. همه ی افراد در دامنه سنی دو تا دوازده سال قرار داشتند. میانگین سنی دختران

بودن آلودگی به انگل لیشمانیا منفی بر آورد شدند. یعنی تست rk39 در ۱۰۰٪ افراد وارد شده به این مطالعه منفی بود. نمودار شماره ۱ فراوانی افراد آلوده به انگل لیشمانیا را در هر منطقه بر اساس تست های DAT نشان می دهد.

جدول ۱- توزیع فراوانی کودکان بدون علامت بالینی از نظر کالا آزار به تفکیک روستای محل اقامت در استان های خراسان شمالی و

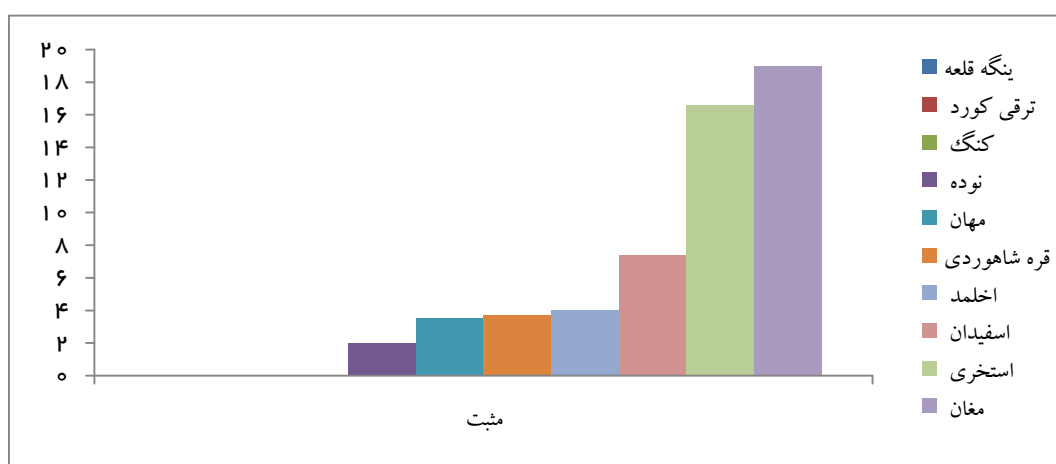
رضوی ۹۵-۱۳۹۴

استان	نام روستا	تعداد کودکان شرکت کننده در مطالعه	درصد از کل جمعیت	تعداد مثبت	درصد مثبت از کل
خراسان شمالی	مهران	۵۶	۱۳/۲۷	۲	۰/۴۷
	ینگه قلعه	۴۵	۱۰/۶۶	۰	۰
	نوده	۵۰	۱۱/۸۴	۱	۰/۲۳
	ترقی کورد	۲۴	۵/۶۸	۰	۰
	استخری	۲۴	۵/۶۸	۴	۰/۹۴
خراسان رضوی	اسفیدان	۲۷	۶/۳۹	۲	۰/۴۷
	اخلمد	۴۹	۱۱/۶۱	۲	۰/۲۳
	قره	۷۹	۱۸/۷۲	۳	۰/۷۱
	مغان	۴۲	۹/۹۵	۸	٪۱۸٫۸۹
	کنگ	۲۶	۶/۱۶	۰	۰
کل		۴۲۲	۱۰۰	۲۲	٪۵٫۲۱

جدول ۲- فراوانی میزان آلودگی به لیشمانیا در کودکان روستائی بر اساس تست های DAT و rk39 و به تفکیک استان محل سکونت

۹۵-۱۳۹۴

استان	تست سرولوژی	تعداد کل	تعداد مثبت	درصد	خراسان شمالی	خراسان رضوی
	DAT	۲۱۷	۹	۴/۱۵	۱۳	۶/۶۳
	rk39		۰	۰	۰	۰



نمودار ۱- فراوانی کودکان بدون علامت بالینی بررسی شده از نظر آلودگی کالا آزار به تفکیک محل سکونت بر اساس تست DAT در

استان های خراسان شمالی و رضوی ۱۳۹۵

درصد مثبت



نمودار ۲- فراوانی کودکان بدون علامت بالینی بررسی شده از نظر آلودگی کالا آزار به تفکیک استان محل سکونت بر اساس تست DAT در استان های خراسان شمالی و رضوی ۱۳۹۵

دست آمده از تست DAT، تفاوت معنی داری میان روستاهای مورد بررسی از نظر ابتلا یا عدم ابتلا به انگل لیثمانیا وجود داشت، به طوری که بیشترین میزان ابتلا به این بیماری به ترتیب در روستاهای مغان از توابع استان خراسان رضوی و استخری از توابع شیروان واقع در استان خراسان شمالی مشاهده شد. به طور کلی، میزان آلودگی به انگل لیثمانیا در روستاهای اطراف استان خراسان رضوی بیشتر از خراسان شمالی بود. وجود داشت.

تشخیص عفونت لیثمانیوز احشایی پیچیده است چرا که تظاهرات بالینی آن با سایر بیماریهای شایع مانند مالاریا، تیفوئید و سل مشابه است. از طرف دیگر این بیماری ها گاهی هم آیند هستند. علاوه بر این مطلب، قابلیت انتقال این انگل به سایر افراد ضرورت شناسایی آن را در مرحله بدون علامت چند برابر می کند. مطالعات زیادی نشان داده اند که بیماری لیثمانیوز اینفاتوم در قسمتهای مختلف ایران اندمیک است (۹). بر اساس یک مطالعه مروری که به بررسی خصایص بالینی لیثمانیا در مناطق اندمیک ایران پرداخت، که اکثر موارد لیثمانیوز به وسیله تست DAT، در مناطق اندمیک ایران در میان کودکان کمتر از دوازده سال تشخیص داده می شد. علایم بالینی در ۷۵٪ از موارد با تست مثبت DAT مشاهده شد (۱۰). در مطالعه حاضر موارد با علایم بالینی از مطالعه کنار گذاشته شدند و شیوع موارد بدون علامت به وسیله

بر اساس نتایج به دست آمده از تست DAT، یک تفاوت معنی دار میان روستاهای مورد بررسی از نظر ابتلا یا عدم ابتلا به انگل لیثمانیوز مشاهده شد ($X^2=66/72$) ($P>0/005$). همچنین، مقایسه میزان تست مثبت و منفی DAT در دو استان خراسان شمالی و رضوی نشان داد که تفاوت معنی داری میان دو استان از نظر میزان آلودگی به انگل لیثمانیا وجود دارد ($X^2=3/38$) ($P>0/005$) نمودار شماره ۲. میانگین سنی افرادی که بر اساس تست DAT به انگل عامل لیثمانیوز آلوده بودند $6/31 \pm 2/35$ و میانگین سنی افرادی که به این انگل آلوده نبودند $6/91 \pm 2/505$ بود. مقایسه میانگین سنی افرادی آلوده به انگل لیثمانیا و افراد غیر آلوده نشان داد که این افراد از لحاظ سنی تفاوت معنی داری با هم نداشتند ($t=-1/155$) ($P=0/547$). به این معنی که دامنه سنی افراد آلوده به انگل لیثمانیا با افراد فاقد آلودگی در یک محدوده بود. با توجه به اینکه تست tk39 در تمام افراد منفی بود امکان محاسبه میزان مثبت و منفی بودن تست DAT بر حسب سن نبود.

بحث

بر اساس یافته های مطالعه حاضر، نتایج تست DAT در ۹۴/۷٪ از شرکت کنندگان منفی و در ۵/۲٪ آن ها مثبت بود. نتایج به دست آمده از تست tk39، تمام افراد شرکت کننده این مطالعه را از نظر آلودگی به انگل لیثمانیا منفی بر آورد کرد. بر اساس نتایج به

۸۰۲ نفر در مناطق شمال غربی و جنوب شرقی استان فارس را از نظر آنتی بادی های ضد لیشمانیا با روش آگلوتیناسیون مستقیم و نیز پی سی آر بررسی کرد. مطالعه مذکور حاکی از آلودگی ۱/۹٪ از افراد ساکن در منطقه شمال غربی استان فارس بود. این میزان در منطقه جنوب شرقی استان فارس ۱/۳٪ ارزیابی شد (۱۶). یافته های این مطالعه نیز میزان ابتلا به لیشمانیا را کمتر از مطالعه حاضر ارزیابی کرد. بنابراین، ابتلا به عفونت بدون علامت در شمال شرقی ایران بیشتر از شمال غربی است. البته این موضوع باید از نظر تیتراسیون مورد پذیرش جهت اعلام آلودگی مثبت نیز ارزیابی گردد.

بر اساس یافته های برخی مطالعات، بیماری کالآزار یک بیماری شایع در برخی شهرهای ایران می باشد، به طوری که این بیماری در شهرهای شمالی استان خراسان رضوی خصوصا شیروان، بجنورد و مشهد، به عنوان یک بیماری اندمیک شناخته شده است (۱۷). بر اساس مطالعه طبرستانی و همکارانش که در سال ۱۳۶۹ در شهر مشهد صورت گرفت، بیماری کالآزار می تواند باعث تغییرات پارامترهای خونی در افراد گردد. بیماری کالآزار می تواند منجر به لکوپنی، نوتروپنی و کاهش میزان هموگلوبین گردد (۱۸). همچنین، احتمال بروز این بیماری در افراد مبتلا به HIV که در مناطق بومی ایران زندگی می کنند، بیشتر از جمعیت عمومی است (۵).

این مطالعه برای تشخیص موارد بدون علامت لیشمانیوز احشایی از دو تست rK39 و DAT استفاده شد. محبعلی و همکارانش در سال ۱۳۸۶ به بررسی ابتلا به انگل لیشمانیوز به وسیله تست DAT در منطقه شمال غربی ایران (مشکین شهر و اردبیل) پرداختند. همانند مطالعه حاضر، بر اساس یافته های مطالعه مذکور که بر ۵۱۶ نفر صورت گرفت، حدود ۵۰٪ از افرادی که تیترا بالای ۱:۳۲۰۰ آنتی بادی را در روش DAT نشان دادند، دارای علائم بالینی بودند که از این تعداد ۹۰/۶٪ اطفال زیر پنج سال و ۴/۶٪ اطفال بالای پنج سال بودند. به طور کلی مطالعه مذکور نشان داد که DAT تستی قابل اعتماد برای تشخیص و اسکرینینگ بیماری کالآزار است (۱۹).

مطالعه دیگری طی یک بررسی سرواپیدمیولوژیک در شهرستان گرمی استان اردبیل به بررسی و مقایسه روشهای سروولوژی

تست DAT ارزیابی گردید که شیوع آن ۵٪ ارزیابی شد. با توجه به اینکه موارد حیوانی یکی از عوامل اصلی انتقال انگل لیشمانیا خصوصا به کودکان در کانون های اندمیک لیشمانیوز احشایی می باشند، مطالعه ای در ایران که یک منطقه اندمیک به شمار می رود به بررسی انگل لیشمانیا با استفاده از تجزیه و تحلیل مولکولی پرداخت. حضور انگل لیشمانیوز احشایی در کبد و طحال از ۱۳،۷٪ از جوندگان در مناطق اندمیک مشاهده شد. (۱۱). همچنین، سگ آلوده به عنوان میزان مخزن اصلی انتقال لیشمانیوز احشایی در منطقه مدیترانه شناخته شده است. مطالعه ای با هدف تعیین پتانسیل سگ آلوده بدون علامت در مقایسه با آنهایی که علامت دار بودند به عنوان یک منبع انتقال لیشمانیا اینفانتوم به همستر انجام شد. لیشمانیا با استفاده از آزمون DAT در ۱۳ مورد علامت دار و ۵۳ مورد بدون علامت شناسایی شد. نتایج بررسی میزان انتقال انگل توسط سگ ها به جوندگان حاکی از آن بود که ارتباط معنی داری میان انتشار عفونت در سگ های علامت دار و بدون علامت وجود نداشت (۱۲). این نتایج حاکی از اهمیت ارزیابی موارد بدون علامت انگل لیشمانیوز می باشد. همچنین، مطالعه ای که در روستاهای اندمیک نپال و هندوستان صورت گرفت، میزان کالآزار بدون علامت را ده برابر شایع تر از فرم های علامت دار آن برآورد کرد، که نشان دهنده لزوم بررسی موارد بدون علامت این انگل را نشان می دهد (۴).

در مطالعه حاضر میزان ابتلا به انگل بدون علامت لیشمانیا ۵٪ برآورد شد. بر اساس یک مطالعه که در یکی از روستاهای ایتیوی صورت گرفت، میزان عفونت بدون علامت لیشمانیوز ۱۰/۱٪ ارزیابی شد (۱۳). همچنین، عفونت بدون علامت لیشمانیا اینفانتوم در برزیل ۱۳/۹٪ برآورد شد (۱۴). که بسیار بیشتر از مطالعه حاضر است، به این دلیل که کالآزار یک بیماری منطقه ای است که میزان فراوانی آن وابسته به منطقه است.

در یک بررسی آینده نگر، احتمال بروز عفونت لیشمانیوز احشایی در شمال غرب ایران ۲/۸٪ در سال برآورد شد که کمتر از میزان به دست آمده از مطالعه حاضر است. در مطالعه مذکور لیشمانیوز احشایی در یکی از هر سیزده کودک مبتلا به عفونت مشاهده شد (۱۵). مطالعه دیگری بین سال های ۱۳۸۳-۱۳۸۶، نمونه های خون

از ۵٪ بر آورد شد که نشان می دهد میزان ابتلا به این انگل در منطقه شمال شرقی ایران بیشتر از سایر نقاط می باشد. همچنین میزان ابتلا به عفونت بدون علامت لیشرمانیوز در استان خراسان شمالی بیشتر از خراسان رضوی می باشد. با وجود حساسیت بالای تست rK39 در تشخیص موارد آلوده به لیشرمانیوز احشایی، این تست در ارزیابی عفونت بدون علامت لیشرمانیوز کارایی لازم را ندارد. بنابراین استفاده از تست DAT برای تشخیص بهتر موارد بدون علامت توصیه می گردد.

ملاحظات اخلاقی

از تمامی شرکت کنندگان رضایتنامه آگاهانه دریافت گردید و به همه آن ها اطمینان داده شد که اطلاعات شخصیشان محرمانه باقی می ماند. همچنین به آن ها اطمینان داده شد که شرکت در مطالعه حاضر کاملاً اختیاری است و آن ها آزاد خواهند بود هر زمان که بخواهند از ادامه شرکت در مطالعه امتناع کنند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۹۳۱۳۱۲ شورای پژوهشی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد و پایان نامه کارشناسی ارشد انگل شناسی به شماره آ- ۹۳۸ به انجام رسیده است. مجریان و نویسندگان تشکر خود را به دلیل تصویب و حمایت های مالی ایشان ابراز می دارند. همچنین همکاری های ارزنده جناب آقای دکتر حمید رضا بهرامی معاون محترم بهداشتی دانشگاه و پرسنل محترم مراکز بهداشت شهرستان های مورد مطالعه و نیز آقای محمود پریان کارشناس آزمایشگاه انگل شناسی تشکر و قدردانی می شود.

IFAT، DAT و ELISA در تشخیص لیشرمانیوز احشایی پرداخت. بر اساس مطالعه مذکور، با استفاده از روش DAT، ۸/۲٪ از افراد دارای آنتی بادی اختصاصی ضد لیشرمانیا با عیار ۸۰۰:۱ ≤ تشخیص داده شدند. همچنین ۶/۰٪ از افراد دارای آنتی بادی اختصاصی ضد لیشرمانیا با عیار ۳۲۰۰:۱ ≤ از نظر سرولوژی مثبت بودند. این میزان در مطالعه حاضر بیشتر ارزیابی شد که می تواند با توجه به منطقه ای که مطالعه در آن صورت گرفته است توجیه گردد. مطالعه محبلی نیز نشان داد که تست DAT یک روش ساده، ارزان، بدون نیاز به تجهیزات پیچیده و قابل اجرا در مناطق آندمیک برای تشخیص لیشرمانیوز احشایی و مطالعات سروایدمیولوژی است و می تواند جایگزین مناسبی برای روشهای پرهزینه IFAT و الیزا باشد. در مطالعه حاضر نیز این تست به عنوان یک ارزیاب کارآمد با توان ارزیابی دقیق آلودگی به لیشرمانیوز احشایی نسبت به تست rK39 ارزیابی شد (۲۰).

بر اساس یافته های این مطالعه تست rK39 در هیچکدام از موارد آلوده به لیشرمانیوز مثبت ارزیابی نشد در حالی که البرزی و همکاران اختصاصی است این تست را برای تشخیص لیشرمانیوز احشایی ۲/۸۴ در صد و حساسیت آن را ۱۰۰٪ ارزیابی کردند (۲۱). سایر مطالعاتی که در ایران صورت گرفتند نیز این تست را در ارزیابی موارد انسانی و حیوانی لیشرمانیوز احشایی مناسب ارزیابی کردند (۲۲، ۲۳). اگرچه تست rK39 می تواند به عنوان یک ارزیاب مناسب در تشخیص افراد مبتلا به لیشرمانیوز احشایی به کار رود با این وجود در ارزیابی موارد آلوده به این انگل کارایی لازم را ندارد.

نتیجه گیری

بر اساس یافته های مطالعه حاضر، با استفاده از تست DAT میزان ابتلا به عفونت بدون علامت لیشرمانیوز در کودکان زیر نه سال بیش

References

1. Alvar J, Velez I, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, Jannin J, Den Boer M, Team W, Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One*. (2012) 7:e35671.
2. Mohebbali M (2013) Visceral leishmaniasis in Iran: review of the epidemiological and clinical features. *Iran J Parasitol*. 8: 348–358.
3. Mohebbali M, Hajjaran H, Hamzavi Y, Mobedi I, Arshi S, Zarei Z, Akhoundi B, Naeini KM, Avizeh R, Fakhar M (2005) Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniasis in the Islamic Republic of Iran. *Vet Parasitol*. 129:243–251.
4. Torabi M, Mohebbali M, Edrissian Gh.H , Keshavarz H, Mohageri M, Hajjaran H, Akhoundi B, Sanati A. A, Zarei Z, Delshad A. Seroepidemiological study of visceral leishmaniasis using direct agglutination test (DAT) in Bojnord district from Northern Khorasan in 2007. *Iranian Epidemiological Journal*. 2008,4(3,4):43-50 (In Persian)5.
5. Shafiei R, Mohebbali M, Akhoundi B, Galian MS, Kalantar F, Ashkan S, Fata A, Farash BR, Ghasemian M. Emergence of co-infection of visceral leishmaniasis in HIV-positive patients in northeast Iran: A preliminary study. *Travel medicine and infectious disease*. 2014 Apr 30;12(2):173-8.
6. Topno RK, Das VN, Ranjan A, Pandey K, Singh D, Kumar N, Siddiqui NA, Singh VP, Kesari S, Kumar N, Bimal S. Asymptomatic infection with visceral leishmaniasis in a disease-endemic area in Bihar, India. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2010 Sep 1;83(3):502-6.
7. Biglino A, Bolla C, Concialdi E, Trisciuglio A, Romano A, Ferroglio E. Asymptomatic *Leishmania infantum* infection in an area of northwestern Italy (Piedmont region) where such infections are traditionally nonendemic. *Journal of clinical microbiology*. 2010 Jan 1;48(1):131-6.
8. Alborzi A, Pouladfar GR, Aelami MH. Visceral leishmaniasis; literature review and Iranian experience. *Archives of Clinical Infectious Diseases*. Iranian journal of clinical infection diseases 2007;2(2):99-108
9. Mohammadiha A, Haghghi A, Mohebbali M, Mahdian R, Abadi AR, Zarei Z, Yeganeh F, Canine visceral leishmaniasis: a comparative study of real-time PCR, conventional PCR, and direct agglutination on sera for the detection of *Leishmania infantum* infection. *Veterinary parasitology*. 2013 Feb 18;192(1):83-90.
10. Mohebbali M, Edrissian GhH, Shirzadi MR, Akhoundi B, Hajjaran H, Zarei Z, Molaei S, Sharifi I, Mamishi S, Mah-moudvand H, Torabi V, Moshfe AA, Malmasi AA, Motazedian MH, Fakhar M (2011) An observational study on the current distribution of visceral leishmaniasis in different geographical zones of Iran and implication to health policy. *Travel Med Infect Dis*. 9: 67–74.
11. Mohebbali M, Javadian E, Yaghoobi Ershadi MR, Akhavan AA, Hajjaran H, Abaei MR. Characterization of *Leishmania* infection in rodents from endemic areas of the Islamic Republic of Iran. *East Mediterr Health J*. 2004; 10(4-5): 591-9.
12. Moshfe A, Mohebbali M, Edrissian G, Zarei Z, Akhoundi B, Kazemi B, Jamshidi S, Mahmoodi M. Canine visceral leishmaniasis: asymptomatic infected dogs as a source of *L. infantum* infection. *Acta Tropica*. 2009 Nov 30;112(2):101-5.
13. Gadisa E, Custodio E, Cañavate C, Sordo L, Abebe Z, Nieto J, Chicharro C, Aseffa A, Yamuah L, Engers H, Moreno J. Usefulness of the rK39-immunochromatographic test, direct agglutination test, and leishmanin skin test for detecting asymptomatic *Leishmania* infection in children in a new visceral leishmaniasis focus in Amhara State, Ethiopia. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2012; May 1;86(5):792-8.
14. dos Santos Marques LH, Gomes LI, da Rocha IC, da Silva TA, Oliveira E, Morais MH, *et al*. Low parasite load estimated by qPCR in a cohort of children living in urban area endemic for visceral leishmaniasis in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* 2012 ; 6:e1955.
15. Davies CR, Gavgani AM. Age, acquired immunity and the risk of visceral leishmaniasis: a prospective study in Iran. *Parasitology* 1999; 119:247-257.
16. Fakhar M, Motazedian MH, Hatam GR, Asgari Q, Kalantari M, Mohebbali M. Asymptomatic human carriers of *Leishmania infantum*: possible reservoirs for Mediterranean visceral leishmaniasis in southern Iran. *Ann Trop Med Parasitol*. 2013; 577-583.
17. Fata A, Modaresi AR, Alavi Bajestani AH. The study of patients with visceral leishmaniasis in hospitals of Mashhad University of Medical Sciences during 1982-1996. *Med J Mashhad Univ Med Sci* 2002; 45:41-51.
18. Tabarestani M, Fata A. Retrospective study of 40 patients with kala-azar at Mashhad University hospitals. *Med J Mashhad Univ Med Sci* 1991; 34:5-20.
19. Mohebbali M, Edrissian GH, Nadim A, Hajjaran H, Akhoundi B, Hooshmand B, *et al*. Application of direct agglutination test (DAT) for the diagnosis and seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis in Iran. *Iran J Parasitol* 2006; 1:15-25.
20. Mahami M, Mohebbali M, Keshavarz H, Zareei Z. Comparison of direct agglutination test (DAT), indirect

immunofluorescent antibody (IFAT) and ELISA in diagnosis of visceral Leishmaniasis. J Ardabil Univ Med Sci 2008; 8:77-83.

21. Alborzi A, Rasouli M, Nademi Z, Kadivar MR, Pourabbas B. Evaluation of rK39 strip test for the diagnosis of visceral leishmaniasis in infants. applications.emro.who.int/emhj/1203_4/12_3-4_2006_294_299.pdf

22. Mohebbali M, Mamishi S, Desjeux P. Evaluation of rapid "Dipstick rK39" test in diagnosis and serological survey of visceral Leishmaniasis in humans and dogs in Iran. Arch Iran Med 2003; 6:29-31.

23. Mikaeili F, Fakhari M, Sarkari B, Motazedian MH, Hatam G. Comparison of serological methods (ELISA, DAT and IFA) for diagnosis of visceral leishmaniasis utilizing an endemic strain. Iran J Immunol 2007; 4:116-121.

Original Article

Seroepidemiologic study of asymptomatic visceral leishmaniasis among children living in rural areas of North and Central Khorasan, Iran

Received: 22/09/2016 - Accepted: 30/11/2016

Ashkanifar S¹
 Fata A^{1*}
 Aalami MH²
 Mohebbali M³
 Jarrahi L⁴
 Amadeh M¹
 Hosseini Farrash BR^{1,3}

1- Dept. Parasitology&Mycology,
 School of Medicine, Mashhad University
 of Medical Sciences.

2- Dept. Pediatrics, School of Medicine,
 Mashhad University of Medical Sciences.

3- Dept. Parasitology&Mycology,
 School of Public Health, Tehran
 University of Medical Sciences.

4- Dept. social Medicine, School of
 Medicine, Mashhad University of
 Medical Sciences.

*Cutaneous Leishmaniasis Research
 Center, School of Medicine, Mashhad
 University of Medical Sciences.
 Email: FataA@mums.ac.ir

Abstract

Introduction: Mediterranean visceral Leishmaniasis (VL), so called kala-azar, is an endemic parasitic disease at Northeastern provinces of Iran. Several techniques are used for diagnosis of VL, but serology is less invasive. This study aimed to obtain the frequency of asymptomatic carriers of VL in endemic areas of North and Central Khorasan province, during 2015-2016.

Methods: This descriptive cross-sectional study was performed on 442 children residing in rural areas of North and Central Khorasan province. The data were collected including demographic information and field observation. Direct Agglutination Test (DAT) and rK39 test were performed to identify antibodies against *Leishmania infantum*. The obtained data were analyzed using SPSS version 16.

Results: DAT was positive in 23 (5.22%) of the children. The result of rK39 test showed that none of the participants suffering from acute stage of kala-azar. DAT test showed that there was a significant difference between the rate of Leishmania infection in two provinces ($P < 0.005$).

Conclusion: According to the results obtained by DAT, the prevalence rate of asymptomatic VL is estimated to be 5%. The rate of VL infection is higher in the Northeast of Iran in comparison with other regions. The rate of asymptomatic VL is higher in the North Khorasan than Central Khorasan provinces. Despite the high sensitivity of rK39 test in diagnosis of VL, it is not appropriate for identifying asymptomatic VL, therefore, using DAT is recommended for diagnosis of asymptomatic VL.

Key words: DAT, Kala-azar, Khorasan, Leishmania, rK39, Visceral Leishmaniasis

Acknowledgement: There is no conflict of interest.