Archive of SID

مجلهٔ علوم پزشکی مدرس
دورهٔ ۷، شماره ۲: از ۱۰۷ تا ۱۱۳
پاییز و زمستان ۱۳۸۳

بررسی گونه های عامل لیشمانیوزیس جلدی انسان با استفاده از منوکلونال آنتی بادیهای اختصاصی درشهرمشهد

محسن ولی زاده[۱] ، عبدالحسین دلیمی اصل[۲*] ، عبدالمجید فتی[۳]، محمود رضا جعفری[٤]، علی خامسی پور[٥]، مسعود مهاجری[٦]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد انگل شناسی، دانشگاه تربیت مدرس
۲- استاد انگل شناسی، دانشگاه تربیت مدرس
۳- استاد انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
٤- دانشیارمرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
٥- استادیار مرکز آموزش و پژوهش بیماریهای پوست و جذام، دانشگاه علوم پزشکی تهران
٦- استادیار انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

چکیده

هدف: این مطالعه با هدف تعیین گونه لیشمانیا در افراد ساکن در شهر مشهد با استفاده از آزمایش الایزا و بررسی شکل برحسب سن و جنس، محل سکونت افراد در مشهد و در ارتباط با گونه لیشمانیا طراحی و اجرا شد.

مواد و روشها: بدین منظور ابتدا با آزمایش گسترش مستقیم و کشت از زخم ۱۵۳ نفر ابتلا به لیشمانیا بررسی، سپس با استفاده از آنتی بادی منوکلونال آزمایش الایزا بر روی نمونه های مثبت انجام گرفت.

نتایج: بدین ترتیب از۷۲ نمونه تعیین گونه شده به روش الایزا، ۵۲ مورد (۷۲/۲۲ درصد) مربوط به *L.tropica* ، ۱٦ مورد (۲۲/۲ درصد) مربوط به *L.major* و ٤ مورد (۵/۵۵ درصد) ناشناخته بوده است. از ۵۲ ایزوله تعیین شده ل. ترویپکا، ٤۹ ضایعه از نظر ظاهری به فرم خشک شبیه بودند و از ۱٦ ایزوله تعیین شده ل. ماژور ، ۱۵ ضایعه از نظر ظاهری به فرم خشک نیز شباهت داشت. ٤ مورد از ۷۲ نمونه مورد بررسی نیز به عنوان سویه های ناشناخته در نظر گرفته شد. بیشترین میزان آلودگی مربوط به ناحیه دست، با ۳۲ ضایعه (۴۴/۴۴ درصد) و کمترین آن در ناحیه تنه، با ۱ ضایعه (۱/۳۸درصد) دیده شده است. از ۷۲ بیمار مبتلا به لیشمانیوزیس، ۴۶ نفر (۶۳/۸۸ درصد) از افراد آلوده مونث و ۲۶ نفر (۳۶/۱۱ درصد) مذکر بوده اند.

بحث: در مطالعه حاضر از نظر خصوصیات بالینی و آزمایش الایزا گونه غالب ل.ترویپکا تشخیص داده شد.

کلید واژگان: لیشمانیوزیس جلدی، انسان، مشهد، گونه، مونوکلونال آنتی بادی، الایزا.

*نشانی مکاتبه: تهران، ص. پ : ۱۱۱- ۱٤۱۱۵ دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه انگل شناسی
E-mail:dalimi4@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

۱- مقدمه

لیشمانیوزیس از جمله بیماریهای مشترک بین انسان و حیوان (زئونوز) است که علت آن تک یاخته جنس لیشمانیا می باشد. تاکنون ۲۹ گونه از این انگل شناخته شده است که ۱۷ گونه آن انسان را در کانونهای مختلف جغرافیایی آلوده‌می‌کند. عامل بیماری به وسیله گونه‌های پشه خاکی (جنسهای فلبوتوموس و لوتزومیا) منتقل می‌شود. تاکنون حدود۵۰ گونه از این پشه‌ها به‌عنوان ناقلین انگل مطرح شده‌اند و بیش از صد گونه از حیوانات مهره‌دار نیز به عنوان مخزن بیماری عمل کرده و چرخه زندگی انگل را در طبیعت حفظ می‌کنند[۱]. معمولاً برای تعیین هویت و تشخیص لیشمانیا از ویژگیهای داخلی و خارجی ارگانیسم استفاده می‌شود. از جمله ویژگیهای خارجی می‌توان به تظاهرات بالینی و منطقه جغرافیایی که عفونت در آن دیده شده است اشاره‌کرد. اما این روشها به تنهایی کافی نیست به همین دلیل برای تعیین هویت انگل از ویژگیهای داخلی که در برگیرنده عمل و ساختمان مولکولی ارگانیسم است، استفاده می‌شود. این ویژگیها عباتند از آنتی بادیهای مونوکلونال برای شناسایی اپی توپهای اختصاصی ، روش ایزوآنزیم الکتروفورز، استفاده از PCR (Polymerase Change Reaction) و روش چگالی شناوری DNA می باشد [۲].

از طرفی از آنجا که تاکنون مطالعات دقیقی درباره وضعیت گونه‌های لیشمانیوزیس در مشهد صورت نگرفته و همچنین شناخت بیماری تنها بر مبنای شواهد بالینی بوده است و در سالهای اخیر تنها در یک تحقیق از وجود گونه لیشمانیا ماژور در یک کانون در حاشیه شهر مشهد با استفاده از آزمایش ایزو آنزیم گزارش شده است [۳] ، لذا مطالعه حاضر در راستای تعیین دقیق گونه لیشمانیا با استفاده از آنتی بادی منوکلونال به‌عنوان هدف اصلی و بررسی خصوصیات دموگرافیک بیماران به‌عنوان اهداف فرعی، طراحی و اجرا شد.

۲- مواد و روشها

۲-۱ - جامعه مورد مطالعه

در این مطالعه از ۱۵۳ بیمار مبتلا به زخم جلدی مشکوک به لیشمانیوزیس که با همکاری طرح خانه به خانه بسیج سلامت و بیماریابی سالک در مشهد و حومه طی تیر الی بهمن ۸۱ به بیمارستان امام رضا (ع) معرفی شده بودند نمونه برداری به عمل آمد.

۲-۲- گونه های استاندارد

ایزوله‌های استاندارد مربوط به ل.تروپیکا با کد MHOM/IR/NADIM3 و ل. ماژور با کد MRHO/IR/76/ER اینفانتوم با کدMHOM/In/80/DD8 را از مرکز آموزش و پژوهش بیماریهای پوست و جذام ایران دریافت شد.

۲-۳- آنتی بادیهای منوکلونال

از آنتی بادیهای منوکلونال اختصاصی برای گونه های ل.ماژور (T_9,T_1) ، ل.تروپیکا (T_{10},A_{11}) ، ل. دنووانی (D_2) و T_7 برای ل. تروپیکا و ل. ماژور استفاده شد. این آنتی بادیهای استاندارد متعلق به سازمان بهداشت جهانی بوده و از مرکز آموزش و پژوهش بیماریهای پوست و جذام ایران دریافت شد.

۲-٤- نحوه نمونه برداری و تکثیر انگل

ابتدا از حاشیه زخم بیماران، نمونه برداشت شد و بر روی لام گسترش تهیه و با گیمسا رنگ آمیزی شد. سپس در شرایط استریل ، با کمک تیغه بیستوری از حاشیه زخم برداشت و به محیط کشت NNN انتقال داده شد. محیط مذکور را در دمای ۲۵°C قرار داده و پس از ٤۸-۷۲ ساعت رشد انگل بررسی شد. برای تکثیر بیشتر، ابتدا انگل را به محیط کشت،$RPMI_{۱٦٤}$ بدون سرم جنین گوساله و بعد از رشد اولیه انگل ، آن را به محیط کشت حاوی ،$RPMI_{۱٦٤}$۱۰-۲۰ درصد سرم جنین گوساله غیر فعال شده انتقال داده شد[٤] .

www.SID.ir

Archive of SID

۲-۵- جداسازی انگل از محیط کشت

برای انجام آزمایش الایزا تعداد انگل باید حداقل ۱×۱۰^{۷} انگل در هر میلی لیتر باشد . بعد از شمارش انگل، محتویات فلاسک کشت در شرایط استریل به لوله‌های سانتریفوژ انتقال داده و در ۱۰ میلی لیتر محلول بافر فسفات سالین استریل[1] در دور ۳۵۰۰ به مدت ۷ دقیقه سه بار شستشو شد. سپس یک میلی لیتر محلول PBS استریل را به رسوب مرحله سوم اضافه کرده و تمام آنها را به لوله های اپندورف اضافه شد[٤].

۲-٦ روش انجام آزمایش الایزا

در این تحقیق هم از انگل تام و هم از آنتی ژن محلول برای آزمایش الایزا استفاده شد.

۲-٦-۱- انگل تام

ابتدا انگل تام را با غلظت ۱×۱۰^{٦} در هر چاله انگل با محلول بافر فسفات سالین (PBS) آماده شد. سپس ۵۰µl از سوسپانسیون آماده شده را در هر چاله میکروپلیت خالی کرده و به مدت یک شب در $٤^{\circ}C$ نگهداری شد[٤].

۲-۷- آنتی ژن محلول

انگل وPBS را در لوله‌های اپندورف ریخته، لوله‌های اپندورف را برای ٦-۱۰ بار به‌ترتیب در سرمای $-۷۰^{\circ}C$ سپس آب جوش قرار داده تا انگل کاملا شکسته شود؛ سپس سوسپانسیون آماده شده را در دور ۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ کرده و پروتئین محلول رویی را به وسیله روش براد فورد اندازه گیری شد. سپس میزان پروتئین هر نمونه با غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر تنظیم گردید. ۵۰µl از سوسپانسیون آماده شده آنتی ژن را در هر چاله تخلیه کرده و به مدت یک شب در $۴^{\circ}C$ نگهداری شد [٤] .

۲-۸- آزمایش الایزا

۱- محتویات میکروپلیتها را پس از گذشت زمان یک شب خالی کرده تا آنتی ژنهای اضافی خارج شود؛ سپس آن را با بافر شستشودهنده شستشو داده سپس بافر مسدود کننده BSA ۵ درصد به هر چاله اضافه شد و به مدت ۱ ساعت در انکوباتور $۳۷^{\circ}C$ قرار داده شد.

۲-بعد از آن چاله ها را با بافر شستشو ۳-٤ بار شستشو داده و ۵۰µl از آنتی بادی مونوکلونال ل. تروپیکا، ل. ماژور و اینفانتوم ۱/۱۰۰۰ رقیق شده با BSA ۵ درصد در هر چاله ریخته و به مدت یک ساعت در $۳۷^{\circ}C$ قرار داده شد.

۳- میکروپلیت را ٤-۵ بار با بافر شستشو داده و آنتی ایمنوگلوبولین موشی کونژوگه شده با پراکسیداز رقیق شده با BSA ۵ درصد را در هر چاله ریخته و به مدت یک ساعت در $۳۷^{\circ}C$ قرارداده شد.

٤- با استفاده از بافر شستشو ٤-۵ بار میکروپلیت را شسته و در شرایط تاریکی سوبسترا- کروموژن تترا متیل بنزیدین را در هر چاله ریخته وبه مدت ۱۵-۲۰ دقیقه در درجه حرارت اطاق قرار داده شد.

۵- به هر چاله ۵۰µl اسید سولفوریک یک مولار(محلول متوقف کننده) اضافه کرده و سپس دانسیته نوری را با کمک دستگاه الایزا ریدر در طول موج ٤۵۰ nm اندازه گیری شد[٤].

در این مطالعه میانگین ODهای قرائت شده به اضافه سه برابر انحراف معیار آنها به‌عنوان Cut off در نظر گرفته شد.

۳- نتایج

در این بررسی از بین ۱۵۳ نفر بیمار مشکوک به لیشمانیا تعداد ۹۳ بیمار از نظر لام وکشت اولیه مثبت شدند و از این میان تعداد ۷۲ نمونه بیمار به مرحله کشت انبوه رسید و برای ادامه مطالعات استفاده گشت. طیف سنی افراد آلوده از یکسال و هفت ماه تا ۹۷ سال متغیر بوده است. این افراد در مناطق شهری از قبیل رضاشهر، سیدی ، پائین شهر(منطقه طلاب)، آب وبرق، بلوار وکیل آباد، خواجه ربیع ۳۵ نفر (۴۸/۶۱ درصد) و در مناطق روستایی از قبیل همت آباد، کال زرکش، جاده قدیم قوچان، سیس آباد و روستای چنارک تعداد ۳۷ نفر (۵۱/۳۸ درصد) ساکن هستند.

1 . Phosphate Saline Buffer

www.SID.ir

Archive of SID

طبق جدول ۱ ،آزمایش الایزا نشان داد که ۵۲ نفر (۷۲/۲۲ درصد افراد) آلوده به گونه ل. تروپیکا، ۱۶ نفر (۲۲/۲۲ درصد) آلوده به گونه ل. ماژور و ۴ نفر (۵/۵۵ درصد) آلوده به فرم ناشناخته بوده اند. منظور از فرم ناشناخته این است که ۳ مورد از آنها با هر دو آنتی بادی اختصاصی لیشمانیا تروپیکا L tropica و لیشمانیا اینفنتوم L.infantum و یک مورد از آنها که با هر دو آنتی بادی اختصاصی L.major لیشمانیا ماژور *L.infantum* ، واکنش نشان دادند.

جدول ۱ – توزیع فراوانی نسبی و مطلق گونه های لیشمانیا تعیین شده به روش مونوکلونال آنتی بادی در مبتلایان به لیشمانیوزیس جلدی در شهرستان مشهد در سال ۱۳۸۱

گونه های تعیین شده	لیشمانیا تروپیکا	لیشمانیا ماژور	لیشمانیای ناشناخته	جمع کل
فراوانی	۵۲	۱۶	۴	۷۲
درصد	۷۲/۲۲	۲۲/۲۲	۵/۵۵	۱۰۰

مطابق جدول ۲ از ۷۲ بیمار بررسی شده، ۴۹ نفر (۷۳/۱۳ درصد) از افراد به لیشمانیوزیس فرم خشک با گونه ل . تروپیکا و ۱۵ نفر (۲۲/۳۸ درصد) با گونه ل. ماژور آلوده بوده اند. ۳ نفر (۶۰ درصد) از افراد به لیشمانیوزیس فرم مرطوب با گونه ل. تروپیکا و ۱ نفر (۲۰ درصد) با گونه ل. ماژور آلوده بوده اند.

جدول ۲ – توزیع فراوانی نسبی و مطلق گونه های لیشمانیا درمبتلایان به لیشمانیوزیس جلدی بر حسب فرمهای خشک و مرطوب در شهرستان مشهد در سال ۱۳۸۱

فرم زخم	گونه های تعیین شده							
	لیشمانیا تروپیکا		لیشمانیا ماژور		لیشمانیای ناشناخته		جمع کل	
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد
خشک	۴۹	۷۳/۱۳	۱۵	۲۲/۳۸	۳	۴/۴۷	۶۷	۹۳/۰۵
مرطوب	۳	۶۰	۱	۲۰	۱	۲۰	۵	۶/۹۴
جمع	۵۲	۷۲/۲۲	۱۶	۲۲/۲۲	۴	۵/۵۵	۷۲	۱۰۰

مطابق جدول ۳ ، تعداد ۴۴/۴۴ درصد ضایعات روی دست ، ۳۰/۵۵ درصد ضایعات روی صورت ، ۲۳/۶۱ درصد ضایعات روی پا و ۱/۳۸ درصد ضایعات روی بدن مشاهده شد و بیشترین میزان آلودگی درروی دست دیده شد.

جدول ۳ توزیع فراوانی نسبی و مطلق گونه های لیشمانیا درمبتلایان به لیشمانیوزیس جلدی بر حسب محل زخم در شهرستان مشهد در سال ۱۳۸۱

www.SID.ir

Archive of SID

محل زخم	گونه های تعیین شده							
	لیشمانیا تروپیکا		لیشمانیا ماژور		لیشمانیای ناشناخته		جمع کل	
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد
صورت	۱۷	۷۷/۲۷	۴	۱۸/۱۸	۱	۴/۵۴	۲۲	۳۰/۵۵
پا	۱۱	۶۴/۷۰	۵	۲۹/۴۱	۱	۵/۸۸	۱۷	۲۳/۶۱
دست	۲۴	۷۵	۶	۱۸/۷۵	۲	۶/۲۵	۳۲	۴۴/۴۴
تنه	۰	۰	۱	۱۰۰	۰	۰	۱	۱/۳۸
جمع	۵۲	۷۲/۲۲	۱۶	۲۲/۲۲	۴	۵/۵۵	۷۲	۱۰۰

جدول ۴ توزیع فراوانی نسبی و مطلق گونه های لیشمانیا درمبتلایان به لیشمانیوزیس جلدی
بر حسب جنس افراد در شهرستان مشهد در سال ۱۳۸۱

جنس بیماران	گونه های تعیین شده							
	لیشمانیا تروپیکا		لیشمانیا ماژور		لیشمانیای ناشناخته		جمع کل	
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد
مرد	۱۸	۶۹/۲۳	۶	۲۳/۰۲	۲	۷/۶۹	۲۶	۳۶/۱۱
زن	۳۴	۷۳/۹۱	۱۰	۲۱/۷۳	۲	۴/۳۴	۴۶	۶۳/۸۸
جمع	۵۲	۷۲/۲۲	۱۶	۲۲/۲۲	۴	۵/۵۵	۷۲	۱۰۰

مطابق با جدول ۴ ، از ۷۲ بیمار مبتلا به لیشمانیوزیس پوستی۴۶ نفر (۶۳/۸۸ درصد) از افراد آلوده مونث و ۲۶ نفر (۳۶/۱۱ درصد) از افراد آلوده مذکر مشاهده شد و بیشترین میزان آلودگی در افراد مونث دیده شده است.

٤- بحث

طبق تحقیقات انجام شده در سالهای گذشته در استان خراسان، هر دو فرم لیشمانیوزیس جلدی خشک و مرطوب در این استان گزارش شده است. فرم خشک در شهرهای مشهد، نیشابور، سبزوار و... و فرم مرطوب در شهرهای سرخس، لطف آباد و اسفراین دیده شده است [۸،۷،۶،۵] جواهری ـ مهاجری و همکاران در سال ۱۳۸۰ روی ۷۷ بیمار مبتلا به ضایعات جلدی

www.SID.ir

Archive of SID

مشکوک در منطقه کوی آب و برق مشهد مطالعاتی انجام دادند. از این تعداد فقط ۱۸ مورد به کشت انبوه رسید که در کنار نمونه‌های استاندارد ل. ماژور و ل. تروپیکا و با استفاده از ۶ سیستم آنزیمی و الکتروفورز مقایسه و ارزیابی شدند. با توجه به ۶ سیستم آنزیمی مورد مطالعه، هر ۱۸ نمونه مجهول ل.ماژور شناخته شدند که تنها یکی از نمونه‌ها زایمودم متفاوتی از ل.ماژور شناسایی شد[۱]. در هیچ کدام از تحقیقات صورت گرفته در مشهد از روشهای الایزا و آنتی بادیهای منوکلونال برای تعیین گونه استفاده نشده است؛ ولی از این روشها برای تعیین گونه لیشمانیا در برخی مناطق کشور استفاده شده است. در مطالعه انجام شده به وسیله حاتم در سال ۱۳۷۵ به منظور تعیین گونه لیشمانیای شایع در اصفهان، که از آنتی بادیهای منوکلونال اختصاصی برای تعیین L.major (T_1)، L.tropica (A_{11}) و L.infantum (D_2) استفاده نموده بود ، از ۳۸ انگل جدا شده از بیماران اصفهانی ، ۳۶ مورد (۹۴/۷ درصد) L.major و ۱ مورد (۲/۶درصد) L.tropica و ۱مورد (۲/۶ درصد)L.infantum شناسایی شد. روش آزمایشگاهی مورد استفاده در این تحقیق آزمایش الایزا بود[۱۰]. شریفی و همکاران نیز در سال ۱۳۷۶ با استفاده از آنتی بادیهای مونوکلونال اختصاصی برای L.major (T1) و L.tropica (T11,T15,T14) و آزمون الایزا، گونه‌های عامل لیشمانیوزیس جلدی را در ۱۱۰ بیمار در شهرهای رفسنجان و کرمان تعیین کردند در مطالعه مذکور در ۹۶ درصد از بیماران L.tropica و در ۴درصد آنها L.major مشاهده شد[۱۱] در مطالعه اردهالی و همکاران در سال ۱۳۷۶ نیز نتیجه مشابه ای مشاهده شد این محققین با استفاده از آنتی بادیهای منوکلونال ، ۱۵۵نمونه انگل لیشمانیای جدا شده از بیماران مبتلا به لیشمانیوزیس جلدی را پس از رشد انبوه و تهیه آنتی ژن با روشهای ایمونوفلورسانس والایزا مورد بررسی قرار دادند. از مجموع ایزوله‌های بررسی شده، ۳۰ نمونه از شیراز، ۲۸ نمونه از کرمان و ۹۸ نمونه از تهران بوده اند، که از این تعداد ۶۳ نمونه با آنتی بادی اختصاصی L.tropica (A_{11})، ۷۲ نمونه با آنتی بادی اختصاصی L.major (T1) و۳ نمونه با آنتی بادی اختصاصی L.donovani (D_2) واکنش دادند. از ۱۷ نمونه باقیمانده، ۶ مورد با آنتی بادی اختصاصی L.major وL.tropica ، ۵ مورد با دو آنتی بادی اختصاصی L.infantum , L.tropica یک مورد با دو آنتی بادی اختصاصی L.major و L.infantum واکنش دادند و ۵ سویه نیز با هیچکدام از آنتی بادیهای مورد آزمایش واکنش نشان ندادند [٤].

استفاده از آنتی بادیهای مونوکلونال برای شناسایی گونه‌های لیشمانیا در کشورهای دیگر نیز انجام گرفته است[۱۲-۱۹]. در مطالعه حاضر، از۷۲ نمونه تعیین گونه شده به روش الایزا، ۵۲ مورد (۷۲/۲۲ درصد) مربوط به گونه L.tropica ، ۱۶- مورد (۲۲/۲ درصد) مربوط به L.major و ۴ مورد (۵/۵۵ درصد) ناشناخته اعلام شد. ۴ مورد از ۷۲ نمونه مورد بررسی به عنوان سویه‌های ناشناخته شناسایی شد که ۳ مورد از آنها از نظر ظاهری شبیه به فرم خشک و با هر دو آنتی بادی اختصاصی L tropica و L.infantum واکنش نشان داد و یک مورد از آنها که با هر دو آنتی بادی اختصاصی , L.major L.infantum پاسخ یکسان و غیر قابل تمایز داشته و از نظر ظاهری نیز به فرم مرطوب شباهت داشت .در مورد چنین سویه هایی که در مقابل هر دو آنتی بادی یا سه آنتی بادی پاسخ داده اند می‌توان چنین اظهارنظر کرد که با توجه به اینکه آنتی بادیهای منوکلونال استفاده شده مورد تأیید سازمان جهانی بهداشت بوده و در تجربیات به‌دست آمده مشخص شده که هر آنتی بادی تنها برای یک گونه اختصاصی است احتمال دارد موارد ناشناخته گونه و یا سویه جدیدی از انگل در این منطقه باشد.

از نظر خصوصیات دموگرافیکی بیماران مبتلا به لیشمانیوزیس پوستی، در مطالعاتی که از سوی مهاجری و همکاران در دانش آموزان مدارس راهنمایی شهر مشهد در سال ۱۳۸۰ انجام

www.SID.ir

Archive of SID

داد ، ایشان تفاوت معناداری بین دو جنس مشاهده نکردند[۲۰]. درمطالعه نصری فر درسال ۱۳۷۸ از مجموع ۲۹۸ بیمار ۱۳۴ نفر (۴۵ درصد) مونث و ۱۶۴ نفر (۵۵ درصد) مذکر بودند[۲۱]درمطالعات انجام شده توسط الهی و همکاران در سال ۱۳۶۸ در مشهد ، زنها ۴۶/۸ درصد و مردها ۵۳/۲ درصد موارد مطالعه شده را تشکیل می دادند [۵] . در تحقیق حاضر نسبت آلودگی بیشتر در خانمها ۴۶ نفر (۶۳/۸۸ درصد) دیده شد درحالی‌که غالباً نسبت آلودگی در مردها بیشتر گزارش می‌شود. براساس نتایجی که در تحقیق حاضر به دست آمده است، بیشترین محلهای آلودگی در روی دست با ۳۲ ضایعه (۴۴/۴۴ درصد) بوده است. به‌طور کلی عفونت غالب در مشهد نوع لیشمانیا تروپیکا می باشد و با توجه به اینکه تفاوتهایی بین تشخیص به روش الایزا و تظاهرات ظاهری دیده می‌شود، بنابراین انجام تستهای اختصاصی برای تشخیص لیشمانیوز پوستی ضروری می باشد.

۵- تشکر و قدردانی

این تحقیق با مساعدت سازمان بهداشت جهانی و با همکاری دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس ، دانشگاه علوم پزشکی مشهد و مرکز آموزش و پژوهش بیماریهای پوست وجذام دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت. نویسندگان از خانم دکتر غفاری فر و آقای دکتر فتاحی بافقی و آقای دکتر محمود شریفیان از گروه انگل شناسی دانشگاه تربیت مدرس به‌خاطر مساعدت و راهنماییهای علمی ، آقای سید ابراهیم اسکندری و خانم اکرم محمدی از مرکز آموزش و پژوهش بیماری های پوست وجذام ، آقایان محمد مهدی اکبری و مجید گنج بخش از آزمایشگاه انگل شناسی بیمارستان امام رضا(ع) مشهد علی اکبر قربانی و محسن عارف نژاد به‌خاطر مساعدت‌های اجرایی و علمی کمال تشکر و سپاس را دارند.

۶- منابع

وجود لیشمانیا در مبتلایان به لیشمانیوز جلدی در شهر مشهد ارائه شده در همایش تازه های لیشمانیوز جلدی و پوست، کتاب خلاصه مقالات، انتشارات علوم پزشکی اصفهان، اردیبهشت ۱۳۸۲ ؛ صفحه ۴۲.

[4]Ardehali S, Moattari A,Hatam GR, Hosseini SMH and Sharifi I.Characterization of Leishmania isolated in Iran:1. Serotyping with species specific monoclonal antibodies . Acta Tropica 2000; 75: 301-7.

[۵] صائبی ا. بیماریهای انگلی در ایران- بیماریهای تک یاخته ای. چاپ ششم، تهران: موسسه فرهنگی- انتشاراتی حیان، ۱۳۷۷؛ صفحه ۱۶۳-۱۷۹.

[٦] الهی ر، فتی ع و برنجی ف. مقایسه روشهای تشخیصی آزمایشگاهی سالک. مجله دانشکده پزشکی؛ دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ۱۳۷۴؛ شماره (۴۷): سال ۳۸ ، صفحه۶۲-۶۸.

[۷] برنجی ف. مقایسه تست جلدی لیشمانین با آزمایشهای مستقیم، کشت و بیوپسی در تشخیص لیشمانیوز جلدی. پایان نامه شماره ۴۷۶- ت، برای دریافت تخصص انگل _ شناسی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد؛ ۱۳۷۲.

[۱] جواهری آ. تعیین هویت گونه های لیشمانیوزیس جلدی به روش ایزوآنزیم الکتروفورزیس در شهر مشهد. پایان نامه کارشناسی ارشد انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ۱۳۸۰؛ صفحه ۱-۴۰.

[2] WHO Control of the Leishmaniasis, Technical Report Series. Geneva: WHO, 1990; 1990;793: Geneva.

[۳] مهاجری م ، حاتم غ ر ، جواهری آ ، شمسیان ع ا . بررسی

www.SID.ir

Archive of SID

[۸] فتی ع م ، الهی ر. بررسی کانونهای جدید لیشمانیوز در مشهد. مقاله ارائه شده در اولین کنگره بیماریهای عفونی و گرمسیری و کاربرد آنتی بیوتیکها، کتاب خلاصه مقالات، انتشارات علوم پزشکی اصفهان ؛ ۱۳۶۷.

[۹] ندیم ا، جوادیان ع ، سیدی رشتی م ع. همه گیری شناسی لیشمانیوزها در ایران. کتاب اردهالی ص، رضایی ح ر و ندیم ا. انگل لیشمانیا و لیشمانیوزها. مرکز نشر دانشگاهی، تهران؛ ۱۳۷۳؛ ص۱۷٦– ۲۰۸.

[۱۰] حاتم غ. تعیین انگل لیشمانیا با روش ایزوآنزیم الکتروفورـ زیس. پایان‌نامه دکترای تخصصیPh.D رشته انگل شناسی، دانشگاه تربیت مدرس؛ ۱۳۷۵.

[۱۱] شریفی ا، زارع زاده م ، فکری ع ر. تعیین هویت گونه های عامل لیشمانیوز جلدی در شهر رفسنجان و کرمان با استفاده از پادتنهای تک دودمانی. دومین کنگره سراسری بیماریهای انگلی ایران؛ ۱۳۷۶.

[12]Frank C. Leishmania Tropica & Leishmania infantum Respon-Sible for Cutaneous Leishmaniasis in Greece. Trans Roy Trop Med Hyg 1993; 87: 184-5.

[13] Mimori T, Griboldi G, Kreutzer RD,Gomez EA. Identification, sing isoenzyme electrophoresis and monoclonal antibodies of leishmania isolated from humans and wild animals of Ecuador . Am J Trop Hyg 1989; 40(2): 154-8.

[14]Anamaria DV, Rolando E, Howard A. Leishmania mexicana complex: Human infections in the republic of panama. Am J Trop Med Hyg 1990; 43(6): 619.

[15]McMahon-pratt D, Bennett E, Grimaldi G Jaffe CL. Subspecies and species-species antigens of Leishmania mexicana characterized by monoclonal antibodies. J Immunol 1985; 134:1935- 40.

[16]Romero GG, Arana M, Lopez M, Montoya I.Characterization of leishmania soecies from peru. Trans R Soc Trop Med Hyg 1987; 81: 14-24.

[17]Velasco O, Savarino SJ, Walton BC.Diffuse Cutaneous Leishmaniasis in mexico. Am J Trop Med Hyg.1989; 41(3): 280-8.

[18]Frank E D, Lucas CM, Torar AA, Kruger J H.Diffuse Cutaneous Leishmaniasis aquired in peru . Am J Trop Med Hyg 1990; 43(3): 260-2.

[19]Keutzer RD, Corredor A, Grimaldi G Morales A. Characterization of Leishmania colombiensis sp.n.(Kinetoplastida: Trypanosomatidae),a new parasite infecting humans,animals,and phlebotomine sandflies in Colombia and panama. Am J Trop Med Hyg 1991; 44(6): 662-75 .

[۲۰] مهاجری م، بلورساز م، شمسیان ع ا. بررسی شیوع لیشمانیوز در دانش آموزان مدارس راهنمایی شهر مشهد. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، شماره (۷۲)، سال چهل و چهارم، ۱۳۸۰؛ صفحه ۵۴–۶۰.

www.SID.ir