سرواپیدمیولوژی لیشمانیوز احشایی (عفونت انسانی) با روش آگلوتیناسیون مستقیم (DAT) در منطقه میانکوه شرقی شهرستان پلدختر لرستان در سال ۸۳ –۱۳۸۲

علی چگنی شرفی[۱]،هرمزد اورمزدی[۲]، مهدی محبعلی[۳]، لامع اخلاقی[۴]، محمدمیرزا شرفی[۵]، بهناز آخوندی[۶]

۱- کارشناس ارشد علوم آزمایشگاهی، بیمارستان شهید مدنی خرم آبادلرستان
۲- استاد، دانشگاه علوم پزشکی ایران
۳- استاد، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
٤- استادیار، دانشگاه علوم پزشکی ایران
٥- پزشک عمومی
٦- مربی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

یافته / دوره هفتم / شماره ۳ و ۴ / پاییز و زمستان ۸۴ / مسلسل ۲۶

چکیده

دریافت مقاله: ۸۴/۲/۲۱، پذیرش مقاله: ۸۴/۸/۱۷

★ **مقدمه:** لیشمانیوز احشایی یکی از بیماریهای عفونی انگلی است که از نظر بهداشتی اهمیت زیادی دارد. این مطالعه در منطقه میانکوه شرقی شهرستان پلدخترازاستان لرستان با هدف تعیین سرواپیدمیولوژی لیشمانیوز احشایی (عفونت انسانی) در سال ۸۳-۱۳۸۲ انجام گرفته است.

★ **مواد و روش ها:** مطالعه به شکل توصیفی ـ مقطعی بوده و روش نمونه برداری به شکل تصادفی چند مرحله ای و گروههای هدف بچه های زیر ۱۲ سال ساکن در منطقه و ۱۰٪ از بزرگسالان بود. در مجموع ۵۳۰ نمونه خون از افراد مذکور تهیه شد که بعد از تهیه پلاسما با روش سرولوژی آگلوتیناسیون مستقیم (DAT)به منظور تشخیص آنتی بادی ضد لیشمانیایی مورد آزمایش قرار گرفتند. در تست DAT برای نمونه های انسانی تیتر های ۱:۳۲۰۰ و بالاتر مثبت وتیترهای ۱:۱۶۰۰ مشکوک درنظر گرفته شد.

★ **یافته ها:** با استفاده از روشDAT،۶نفر(۱/۲۶٪)دارای تیتر۱:۳۲۰۰ و بالاتر ازنظر سرولوژی مثبت بودند و ۱ نفر (۰/۲۱٪) باتیتر۱:۱۶۰۰ به عنوان تیتر مشکوک و ۶نفردارای تیترهای ۱:۸۰۰ مشاهده شد. این مطالعه در تمام روستاهای میانکوه شرقی انجام گرفت که موارد مثبت سرمی به ترتیب از روستاهای لتوند(امورد)،دارصافه (۲مورد)بن جو(۲ مورد)و عشایر کوچنده (۱مورد)بودند. در سایر روستاهاهیچ موردی از بیماری مشاهده نگردید.

★ **نتیجه گیری:** نتایج نشان می دهد که لیشمانیوزاحشایی یک بیماری اسپورادیک درمنطقه میانکوه شرقی پلدختر می باشد. این بررسی لزوم مطالعات تکمیلی جهت شناسایی ناقلین قطعی و مخازن احتمالی دیگر در منطقه را پیشنهادمی کند.

واژه های کلیدی: سرولوژی، لیشمانیوز احشایی،انسان و ایران

آدرس مکاتبه: خرم آباد، بیمارستان شهید مدنی، آزمایشگاه

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2025-12-05]

مقدمه

لیشمانیوز احشایی (کالاآزار) [1] یکی از بیماریهای عفونی- انگلی است که از نظر بهداشتی اهمیت زیادی دارد. اگر چه میزان توجه به لیشمانیوز به عنوان یک مشکل بهداشت عمومی افزایش یافته؛ ولی فعالیتهای موجود برای کنترل کافی نیستند. تنوع زیادی که در فرمهای بالینی و موقعیتهای اپیدمیو لوژیک بیماری وجود دارد، نشان دهنده این است که هر کانونی به اصول و روشهای کنترلی خاص خود نیاز دارد (۲،۱). لیشمانیوزجزء بیماریهای اندمیک ایران و بیش از ۸۰ کشور جهان محسوب می شود (۳). کالاازار در ایران از نوع مدیترانه ای بوده و عامل آن لیشمانیا اینفانتوم، ناقل آن گونه های بخصوصی از پشه خاکی های جنس فلبوتوموس و مخزن انگل سگ، سگ سانان وحشی است. این بیماری در بعضی از مناطق استانهای اردبیل، آذربایجان شرقی،فارس و بوشهر به شکل اندمیک و در سایر مناطق به صورت اسپورادیک گزارش شده است (۵،۴). در منطقه مورد پژوهشی ما با توجه به اینکه در طی سالهای گذشته موارد تأیید شده ای از این بیماری در کودکان زیر ۱۲ سال به وقوع پیوسته، اما گزارش رسمی در منابع علمی مشاهده نشده است، از این رو تصمیم گرفته شد تا برای اولین بار با مطالعه ای پژوهشگرانه وضعیت کنونی بیماری را در این شهرستان به مدت یکسال از تاریخ ۸۲/۵/۱۰-۸۳/۵/۱۰ مورد مطالعه قرار گیرد.

مواد و روش ها

این بررسی از نوع توصیفی و به روش مقطعی بوده و روش نمونه برداری به شکل تصادفی چند مرحله ای بوده وگروههای هدف افراد زیر ۱۲ سال و کمتر و ۱۰٪ از بزرگسالان بوده اند (۵۳۰نمونه). در این بررسی تمامی نمونه ها در داخل لوله های میکروهماتوکریت هپارینه از نوک انگشت مراجعه کنندگان تهیه شد. درنوزادان و بچه های زیر یکسال نمونه برداری از پاشنه پا و یا انگشت شست پا یا دست انجام می شد. نمونه های خون در شرایط مطلوب به آزمایشگاه منتقل و توسط دستگاه میکروهماتوکریت به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰در دقیقه سانتریفوژ می شد. پس از جداسازی سرم یا پلاسما در شرایط مناسب به آزمایشگاه لیشمانیوز دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران جهت انجام آزمایشات لازم منتقل شد و درفریزر۲۰- نگهداری شده و به روش سرولوژی آگلوتیناسیون مستقیم مورد آزمایش قرار گرفتند.

تست آگلوتیناسیون مستقیم[2]: آنتی ژن تست آگلوتیناسیون مستقیم در آزمایشگاه لیشمانیوز واحد تک یاخته شناسی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی،دانشگاه علوم پزشکی تهران بر اساس روش دکتر هریت[3] تهیه شد (۶). در این روش آنتی ژن در مجاورت رقت های مختلف سرم یا پلاسمای فرد مشکوک قرار داده شد که در صورت حضور آنتی بادی اختصاصی در سرم بیمار پس از گذشت ۱۸ ساعت آگلو تیناسیون صورت گرفت.ابتدا به کمک محلول رقیق کننده و میکرو پلیت های وی[4] شکل رقت های مورد نیاز ازپلاسمای بیمار تهیه شدو پس از افزودن آنتی ژن در رقت های ۱:۳۲۰۰و ۱:۸۰۰ میکروپلیت ها در داخل اطاقک مرطوب قرار گرفتند و دریک سطح افقی در اتو۲۰ درجهٔسانتی گراد تا روز بعد (حداقل ۱۸ساعت) باقی ماند. برای تفسیر آزمایش پلیت را روی سطح سفید قرار داده و از بالا به آن نگاه کرده چنانچه حفره ای که آنتی ژن در آن ریخته شده بود. انگلها به صورت یک تکمه کوچک آبی رنگ با حاشیه کاملا مشخص جمع شده و در وسط حفره میکروپلیت ته نشین شده بودند دال بر عدم آگلوتیناسیون و نتیجه آزمایش از

1. Kala azar
2. Direct Agglutination Test (DAT)
3. Harith
4. Plate v

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2025-12-05]

نظر تشخیص آنتی بادی لیشمانیا منفی به حساب می آمد. اگر به حالت کلوئیدی ابری شکل آبی رنگ یکنواخت در تمام مایع موجود در حفره پراکنده شده یا به اصطلاح آگلوتینه شده بودند، نتیجه آزمایش از نظر تشخیص آنتی بادی لیشمانیا مثبت محسوب می شد. بالاترین رقت از نمونه سرمی که آگلو تیناسیون در آن ایجاد شده به عنوان حداکثر عیار مثبت تست آگلوتیناسیون مستقیم در نظر گرفته شد. در این صورت برای تعیین عیار، نمونه ها مجددا در رقت های بالاتری آزمایش شدند. عیارهای ۱:۳۲۰۰ و بیشتر از نظر تشخیص آنتی بادی لیشمانیا مثبت و عیار های ۱:۱۶۰۰ مشکوک و کمتر از ۱:۱۶۰۰ منفی تلقی شدند.داده ها با استفاده از آزمون توصیفی و آزمون Z فیشر به کمک نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها

در این بررسی جمعا تعداد۵۳۰ نمونهٔ پلاسمای انسانی تهیه شد که تمام نمونه ها با روش آگلوتیناسیون مستقیم درآزمایشگاه لیشمانیوز واحد تک یاخته شناسی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران با سرم کنترل های مثبت و منفی آن مرکز مورد آزمایش قرار گرفت. از۵۳۰ نمونهٔ پلاسمای انسانی ۴۷۵نمونه(۸۹/۶٪) مربوط به گروه سنی زیر ۱۲ سال و ۵۵ نمونه (۱۰/۴٪)مربوط به گروههای سنی بالاتر از ۱۲ سال بودند.

حداقل سن ۱/۵ ماه و حداکثر ۶۵ سال بوده است. از مجموع ۵۳۰ نمونهٔ پلاسمای انسانی اخذ شده ۲۱۶ نفر (۴۰/۷۵٪) پسر زیر ۱۲ سال و ۲۵۹ نفر (۴۸/۸۷٪)دختر زیر ۱۲ سال و ۱۸ نفر (۳/۴٪) مرد بالای ۱۲ سال و ۳۷ نفر (۶/۹۸٪)زن بالای ۱۲ سال بودند.

پس از انجام آزمون آگلوتیناسیون مستقیم عفونت لیشمانیایی کلادر ۶ کودک با عیار برابر ۱:۳۲۰۰ و بالاتر از بچه های زیر ۱۲ سال تأیید گردیدوشیوع بیماری در این گروه سنی (۱/۲۶٪) برآوردگردید. یک نمونه مشکوک با عیار ۱:۱۶۰۰ (۰/۲۱٪) که شخص مورد نظرفاقد علائم بالینی بیماری بود و در ۶ نمونه هم عیار ۱:۸۰۰ مشاهده شد که عیارهای کمتر از ۱:۱۶۰۰ را منفی تلقی گردید.

از تعداد کل نمونه های زیر ۱۲ سال ۲۱۶ نفر (۴۰/۷۵٪) مذکر بودند که تعداد ۴ نفر (۱/۶٪) مثبت بودند و از ۲۵۹ نفر (۴۸/۸۷٪) تعداد ۲ نفر (۰/۷۷٪) از دختران زیر ۱۲ سال سرم مثبت بودندکه با انجام آزمون آماری تست فیشر مشاهده شد، بین دو جنس مذکر و مؤ نث اختلاف معنی داری وجود ندارد؛ ولی نسبت افراد سرم مثبت با تست آگلوتیناسیون مستقیم درجنس مذکر دو برابر مؤنث بود (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱ـ نتایج آزمایش سرولوژی آگلوتیناسیون مستقیم بر حسب سن و جنس و تعداد نمونه های مورد بررسی

گروههای سنی (سال)	تعداد نمونه ها		منفی و کمتراز۱۶۰۰÷۱				موارد مشکوک با عیار ۱۶۰۰÷۱				موارد سرم مثبت با عیار ۳۲۰۰÷۱وبیشتر			
			مؤنث		مذکر		مؤنث		مذکر		مؤنث		مذکر	
	مؤنث	مذکر	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
۰-۲	۳۲	۲۴	۳۱	۹۶/ ۸۷	۲۴	۱۰۰	-	-	-	-	۱	۳/۱۳	-	-
۳-۴	۳۲	۲۶	۳۲	۱۰۰	۲۶	۱۰۰	-	-	-	-	-	-	-	-
۵-۶	۳۶	۳۰	۳۶	۱۰۰	۲۹	۹۶/۶۶	-	-	-	-	-	-	۱	۳/۳۳
۷-۸	۵۶	۴۹	۵۵	۹۸/۲	۴۷	۹۵/۹۱	-	-	-	-	۱	۱/۷۹	۲	۴/۰۸
۹-۱۰	۴۱	۴۳	۴۱	۱۰۰	۴۱	۹۵/۳۵	-	-	-	-	-	-	۱	۲/۳۳
۱۱-۱۲	۶۲	۴۴	۶۱	۹۸/۳۹	۴۲	۹۵/۴۵	-	-	۱	۲/۲۷	-	-	-	-
۱۲<	۳۷	۱۸	۳۵	۹۴/۵۹	۱۷	۹۴/۴۴	-	-	-		-	-	-	-
جمع	۲۹۶	۲۳۴	۲۹۱		۲۲۶		-		۱		۲		۴	

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2025-12-05]

بحث

در این بررسی موارد سرم مثبت از نظر کالاآزاردر گروههای سنی زیر یک سال مشاهده نشد. این مسئله می تواند ناشی از طولانی بودن دوره نهفتگی بیماری، انتقال ایمنی اکتسابی از مادر به خصوص در مناطق اندمیک و یا احتمال تماس کمتر با پشه ناقل بدلیل پوشش بدن باشد.در گروه سنی ۲-۱ سال ۱نفر(۳/۱۳٪) سرم مثبت بود که از لحاظ جنسی مؤنث و دارای علائم بالینی بیماری (آنمی، تب و اسپلنومگالی) بود که با مطالعه کریم خیرآبادی و همکاران (۱۳۸۲) همخوانی دارد(۲). بیشترین افراد سرم مثبت این مطالعه در گروههای سنی ۹-۵ سال بودند که این افراد دارای سابقه بیماری بوده چون آنتی بادیهای علیه لیشمانیا که توسط تست آگلوتیناسیون مستقیم شناسایی می شوند، مدت ۳تا۴ سال وحتی بیشتر در خون می مانند. بنابراین کاهش تیتر آنتی بادی در افرادی که در سنین پایین مبتلا شده اند در سن ۹ سالگی و بالاتر دیده خواهد شد. در مطالعه ای که خانم میر صمدی (۱۳۷۹) انجام داده، عیار آنتی بادی با روش تست آگلوتیناسیون مستقیم دیرتر از IFA[1] و الیزا[2] پایین می آید (۷).در این مطالعه مشاهده شد که افراد سرم مثبت در گروههای بالاتر از ۱۰ سال در جنس مؤنث بیشتر از مذکر بوده که شاید به دلیل ابتلاء قبلی، درمان و یا موارد تحت کلینیکی باشد.

با توجه به نتایج حاصل در این پژوهش که مشاهده شد بیشترین افراد سرم مثبت زیر ۱۰ سال سن داشتند با مطالعه ای که در سال ۱۹۸۸ توسط ادریسیان و همکاران در مشکین شهر از استان اردبیل انجام شده نیز نشانگر این است که در حدود ۹۷٪ موارد کالاآزار در بچه های زیر ۹ سال و در بیش از ۵۰ ٪ موارد در بچه های زیر ۴ سال دیده می شود (۸).

همچنین در این مطالعه مشاهده شد افراد سرم مثبت در جنس مذکر دو برابر جنس مؤنث بودندکه با انجام آزمون آماری اختلاف معنی داری بین جنس مذکر و مؤنث و مذکر مشاهده نشدکه با مطالعات انجام شده در مناطق اسپورادیک مشابه مثل مطالعه انجام شده توسط منوچهری و همکاران در شهرکرد و مهدی فخار در منطقه قاهان قم همخوانی دارد (۹،۱۰).

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده و موارد تحت کلینیکی بنظر می رسد انتقال بیماری با سرعت پایین در منطقه صورت می گیرد. البته این بررسی ضرورت مطالعات تکمیلی جهت تعیین ناقلین و مخازن را در منطقه ایجاب می کند و می توان نتیجه گرفت به احتمال زیاد عفونت در روستاههای لتوند، دارصافه و بن جو به صورت اندمیک وجود داشته باشد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه با پشتیبانی مالی دانشگاه علوم پزشکی ایران اجراء شده است.بدینوسیله از دانشگاه مذکور تشکر وقدردانی می گردد. از دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران برای دراختیارقرار دادن آنتی ژن واز خانم چاره دار پرسنل این مرکز واز بهورزان محلی به خصوص آقای باقر تیموری وکارکنان درمانگاه چمشک تشکر وقدردانی می گردد.

1. Indirect Fluorescence Antibody (IFA)
2. Enzyme- Linked Immuno-Sorbent assay (ELISA)

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2025-12-05]

References

1. World Health Organization. The leishmaniae. Report of a WHO Export committee World Health Organization. Geneva. 1990; No. 793

۲- محمدی خیرآبادی ک، محبعلی م، ممیشی س،عرشی ش. خصوصیات اپیدمیولوزیک کالاآزار در بیماران بستری در بیمارستانهای اردبیل، مجله بهداشت، (۱۳۸۲)، دوره دو شماره دو، صص: ۲۴-۱۱

3. Godal T. New dimension for parasitology in the 21st century. In:Ozcel A. Alkan MZ(eds) parasitology for 21st century CAB International, 1996:1-13
4. Edrissian GH, Ahanchin AR, and Ghaarachahi AM. Seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis and search for animal reservoirs in Fars Province, southern Iran. Iran.J.Med Sci. 1993; 18:99-105
5. Mohebali M, Khamesipour A, Mobedi I, Zarei Z, Fesharki RH. Double – blind randomized efficacy field trial of alum precipitated autoclaved leishmania major vaccine mixed with BCG against canine visceral leishmaniasis in Meshkin – Shahr district, I.R.Iran. Vaccine, 2004; 22: 4097-4100
6. Harith AE, Kolk AHJ, Kager PA, Leeuwenburg J, Muigai R, Kiugu S and et al. A simple and economical direct agglutination test for serodiagnosis. Trans. R. Soc. Trop. Hyg, J.J 1986; 8: 583 – 87

۷- میر صمدی ن، محبعلی م، عطاری م، ادریسیان غ ح. سرواپیدمیولوژی لیشمانیوز احشایی(کالاآزار) در آذرشهر، آذربایجان شرقی مجله پژوهشی حکیم بهار ۸۲ دوره هشتم شماره اول صص: ۲۲-۱۷

8. Edrissian GH, Hafizi A, Afshar A, Soleiman – zadehs G, Movahed Danesh, AM and Garoussi. An endemic of visceral leishmaniasis in Meshkin – shahr, East Azarbaijan province, North – west part of Iran Bulletindela societe depathologie exotique et deses filliales, 1988; 81(2): 238 – 48

۹- فخار م. بررسی سرواپیدمیو لوژی لیشمانیوز احشایی در انسان و مخازن حیوانی (سگ) در دهستان قاهان از استان قم. با استفاده از روش آگلوتیناسیون مستقیم. پایان نامه جهت دریافت درجهٔ کارشناسی ارشد علوم بهداشتی در رشتهٔ انگل شناسی پزشکی، دانشکدهٔ بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۸۱ – ۱۳۸۰

۱۰-منوچهری نائینی ک، عباسی ع ا، خدیوی ر، محبعلی م، حجاران ه. سرواپیدمیولوژی لیشمانیازیس احشایی در کودکان مناطق عشایری استان چهامحال بختیاری مقاله شماره ۱۹۳ چهارمین همایش سراسری انگل شناسی و بیماریهای انگلی ایران دانشگاه علوم پزشکی مشهد مقدس ۲۴ -۲۱ مهر۱۳۸۲

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2025-12-05]