● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ هجدهم، شمارهٔ ۳، ص ۲۲۷-۲۱۸، ۱۳۹۰

مقالهٔ پژوهشی

میزان شیوع آلودگی به لیشمانیوز پوستی در شهر وحومه محمدآباد، شهرستان جیرفت در استان کرمان در سال ۱۳۸۷ و تعیین گونه انگل به روش Nested-PCR

سمیه پوراسماعیلیان[۱]، محمد میرزایی[۲]، ایرج شریفی*[۳]، مهدی زارعان[۱]

خلاصه

مقدمه: لیشمانیوز پوستی یکی از چالش‌های بهداشتی جهان به ویژه ایران به‌شمار می رود. این مطالعه با هدف بررسی اپیدمیولوژی و تعیین گونه انگل عامل بیماری در شهر و حومه محمدآباد، در شمال شهرستان جیرفت صورت گرفته است.

روش: این بررسی مقطعی - توصیفی به صورت سرشماری برای ارزیابی اپیدمیولوژیکی، تشخیص موارد بر اساس نمونه گیری مستقیم و تعیین گونه انگل با استفاده از روش Nested-PCR، انجام گردید.

یافته‌ها: در مجموع ۳۵۱۶ نفر شامل ۱۷۴۳ نفر (۴۹/۶٪) مؤنث و ۱۷۷۳ نفر (۵۰/۴٪) مذکر از نظر میزان آلودگی به لیشمانیوز پوستی، مورد معاینه فیزیکی قرار گرفتند. شیوع کلی آلودگی ۵/۳٪، در جنس مؤنث ۶/۲٪ و در جنس مذکر ۴/۵٪ بود که اختلاف معنی‌داری بین دو جنس مشاهده گردید (P<۰/۰۵). بیشترین آلودگی در گروه سنی ۲۰-۱۱ سال (۱۰/۵٪) و کمترین آن در گروه سنی ۳۰-۲۱ سال (۳٪) وجود داشت. بیشتر ضایعات در صورت (۴۷٪) و تک‌زخم (۶۴٪) بودند. روش Nested-PCR، گونه انگل در این منطقه را لیشمانیا تروپیکا تعیین نمود.

نتیجه‌گیری: این مطالعه برای اولین بار در این منطقه از شهرستان جیرفت که هم‌جوار با شهرستان بم می‌باشد صورت گرفته است. به‌نظر می‌رسد سیر صعودی این بیماری در سال‌های بعد از زلزله، همزمان با بروز اپیدمی بیماری در شهر بم، به دلیل تردد بیشتر اهالی در این منطقه خوش آب و هوا و ییلاقی ، روی داده است.

واژه‌های کلیدی: لیشمانیوز پوستی، اپیدمیولوژی، گونه‌های لیشمانیا، Nested-PCR، جیرفت

۱- کارشناس ارشد انگل شناسی دامپزشکی، مرکز تحقیقات لیشمانیوز، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۲- استادیار گروه پاتوبیولوژی، بخش انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان ۳- استاد انگل‌شناسی، مرکز تحقیقات لیشمانیوز، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

* **نویسنده مسؤول، آدرس:** کرمان، انتهای بلوار ۲۲ بهمن، دانشکده پزشکی افضلی‌پور، مرکز تحقیقات لیشمانیوز

● **آدرس پست الکترونیک:** iraj.sharifi@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۴/۲۲ **دریافت مقاله اصلاح شده:** ۱۳۸۹/۸/۱۶ **پذیرش مقاله:** ۱۳۸۹/۹/۱۰

مقدمه

لیشمانیوز یکی از بیماری‌های مهم از نظر سازمان جهانی بهداشت می‌باشد (۱). بیماری در اغلب نقاط جهان از جمله ایران در حال تغییر بوده، به‌طوری که موارد آن در بسیاری از مناطق به‌صورت نوپدید و بازپدید، در حال افزایش است (۵-۲). عوامل متعددی از جمله تغییرات محیطی، جابه‌جایی جمعیت، مهاجرت‌های بی‌رویه و توسعه مدنی، در افزایش موارد بیماری نقش عمده‌ای داشته‌است (۶،۷).

لیشمانیوز جلدی هنوز هم یکی از چالش‌های بهداشتی جهان به‌ویژه ایران بوده و بیش از ۹۰ درصد موارد آن در ایران، عراق، عربستان، افغانستان، سوریه، پرو و نپال دیده می‌شود (۱). این بیماری در ایران در حال افزایش است به‌نحوی که در ۱۵ استان کشور انتشار دارد (۸) و در سال‌های اخیر کانون‌های آن از بخش‌های جنوب‌شرقی کشور از جمله شهرهای کرمان، بم، رفسنجان، جیرفت، بافت، شهربابک و سیرجان در استان کرمان گزارش شده است (۷،۹،۱۰). بر اساس گزارش مرکز مدیریت بیماری‌ها، تعداد مبتلایان به انواع مختلف لیشمانیوز جلدی در کشور ما رو به فزونی نهاده و موارد آن به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای از مالاریا پیشی گرفته است (۸).

جوامع بشری همواره از بیماری‌های مشترک بین انسان و حیوانات زیان دیده‌اند. لیشمانیوز نیز یکی از مهم‌ترین این بیماری‌ها به‌شمار می‌رود که متأسفانه روند رو به رشد بیماری بسیار نگران‌کننده است. لیشمانیوز پوستی از دیرباز در ایران وجود داشته و پیوسته موجب اپیدمی‌هایی در نقاط مختلف کشور شده (۱۱،۱۰) و با وجود کوشش‌هایی که در زمینه کنترل صورت گرفته است، سیر صعودی بیماری و اشکال مقاوم به درمان آن هم‌چنان ادامه دارد (۱۲،۱۳).

در ایران دو گونه لیشمانیا ماژور و لیشمانیا تروپیکا عوامل لیشمانیوز جلدی می‌باشند که به‌ترتیب از طریق نیش پشه خاکی‌های فلبوتوموس پاپاتاسی و فلبوتوموس سرژنتی به انسان انتقال می‌یابند. مخزن اصلی لیشمانیا ماژور موش‌های خانواده ژربیلیده می‌باشند، در صورتی که مخزن لیشمانیا تروپیکا خود انسان است. از کانون‌های مهم این بیماری می‌توان به شهرهای تهران (شمال غرب تهران)، مشهد، نیشابور، شیراز، کرمان، بم و یزد اشاره نمود. این بیماری در قم، کاشان، سبزوار و جنوب شهر اصفهان نیز وجود دارد ولی اهمیت آن به اندازه کانون‌های ذکر شده نمی‌باشد. در شهرهای آلوده، بیماری شکل یکنواختی ندارد زیرا گونه‌ها و وفور جمعیت پشه خاکی‌ها در نقاط مختلف شهر متفاوت است. این بیماری تقریباً در تمام فصول سال دیده می‌شود و ممکن است به‌علت مهاجرت، تغییرات آب وهوایی و عوامل محیطی به نواحی مجاور نیز کشیده شود (۳،۹-۱۶).

تشخیص لیشمانیوز پوستی با نمونه‌برداری از حاشیه زخم، تهیه گسترش، رنگ‌آمیزی با یکی از رنگ‌های رومانوفسکی (گیمسا، رایت یا لیشمن)، بررسی میکروسکوپی و مشاهده اجسام لیشمن (آماستیگوت‌ها) صورت می‌گیرد. افتراق دقیق لیشمانیا تروپیکا و لیشمانیا ماژور بر اساس فاکتورهای خارجی (Extrinsic) به طور دقیق امکان‌پذیر نبوده و امروزه با استفاده از فاکتورهای داخلی (Intrinsic) مبتنی بر شواهد مولکولی، بیوشیمیایی یا ایمونولوژیکی این کار میسر می‌باشد (۱۹-۱۵). تشخیص لیشمانیوز جلدی با استفاده از روش‌های انگل‌شناسی نظیر تهیه گسترش مستقیم وکشت از حاشیه زخم علاوه بر پایین‌بودن حساسیت، تنها جنس انگل را تعیین نموده و قادر نیست گونه عامل بیماری را مشخص نماید. از طرفی با توجه به پیشرفت‌های زیادی که با استفاده از روش‌های ملکولی برای تعیین گونه‌های انگل صورت گرفته است، ضرورت انجام مطالعات اپیدمیولوژیکی و داروشناختی برای ارزیابی وضعیت فراوانی و درمان بیماری ضروری به‌نظر می‌رسد. در این مطالعه از روش Nested-PCR استفاده گردید. مطالعات مشابهی با این روش در ایران انجام شده است. در مطالعه‌ای که توسط مراغی و همکاران در سال ۲۰۰۷ در

شوش خوزستان انجام گردید ایزوله‌های لیشمانیا به‌وسیله Nested-PCR تعیین گونه شده‌اند (۲۰). در مطالعه‌ی دیگر توسط رزمجو و همکاران در سال ۲۰۰۹ در شیراز گونه انگل لیشمانیا با روش مشابهی تعیین گردیده است (۲۱).

شهر و حومه محمدآباد در ۴۵ کیلومتری شمال‌شرقی شهرجیرفت، در مجاورت با بخش دهبکری شهرستان بم می‌باشد که طی سال‌های بعد از زلزله سال ۱۳۸۲ به صورت یک کانون اندمیکی از لیشمانیوز پوستی نوع شهری تثبیت شده، قرار دارد (۲۲). این منطقه ییلاقی عمدتاً کوهستانی و دارای جمعیتی حدود ۴۰۰۰ نفر است و به لحاظ داشتن مناظر طبیعی دلنشین و شرایط آب‌وهوایی مساعد در تابستان، شرایط مناسبی را برای اقامت موقت اهالی جیرفت و بم که دارای تابستان‌های بسیار گرم می‌باشند، فراهم نموده است.

در این مطالعه برآن شدیم تا ضمن بررسی اپیدمیولوژیکی بیماری، با استفاده از تکنیک Nested-PCR که دارای اعتبار بالایی می‌باشد (۲۳)، گونه انگل را در شهر و حومه محمدآباد، شهرستان جیرفت شناسایی نموده تا ضمن دستیابی به روش درمانی مناسب، برنامه‌ریزی لازم برای اقدامات کنترلی به‌وسیله مسؤولین بهداشتی منطقه فراهم گردد. با توجه به اینکه هیچ‌گونه مطالعه‌ای در این کانون صورت نگرفته است، ضرورت انجام این بررسی به‌شدت احساس می‌شود.

روش بررسی

مطالعه حاضر از نوع توصیفی - مقطعی بوده و در شهر و حومه محمدآباد از توابع شهرستان جیرفت از اوایل شهریور تا اواخرآذر ماه ۱۳۸۷ انجام گردید.

نمونه‌ها از ضایعات پوستی با روش مستقیم گرفته و تعیین گونه انگل با روش Nested-PCR، و نمونه‌گیری به‌صورت سرشماری، انجام گردید. با همکاری کارکنان بهداشتی و مراجعه به هر منطقه و خانوارهای تحت پوشش، افراد مشکوک به زخم سالک انتخاب و به مرکز بهداشتی درمانی منطقه معرفی می‌شدند. برای هر فرد پرسشنامه‌ای حاوی مشخصات فردی و بیماری نظیر نام و نام خانوادگی، جنس، سن، بومی و غیربومی بودن و تعداد و محل ضایعه و سال ابتلا، تکمیل گردید.

تشخیص نمونه‌ها

از هر کدام از ضایعات پوستی فعال (حاد) افراد مشکوک پس از ضدعفونی کردن با الکل ۷۰٪، به کمک دسته بیستوری و تیغ جراحی با خراش‌دادن کناره متورم زخم، گسترشی بر روی لام تهیه گردید. گسترش‌ها ابتدا با متانول فیکس، سپس به‌وسیله گیمسا رنگ‌آمیزی و زیر میکروسکوپ برای وجود اجسام لیشمن (آماستیگوت‌ها)، مورد بررسی قرار گرفت. هم زمان نمونه‌ای دیگر در کنار شعله به محیط کشت NNN (Novy-MacNeal-Nicolle) انتقال داده شد و در انکوباتور در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت یک ماه نگهداری و هر ۲ الی ۳ روز یک بار برای رشد پروماستیگوت‌ها، مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفت. افراد آلوده به‌منظور درمان با داروهای مناسب به پزشک ارجاع داده می‌شدند.

استخراج DNA و انجام PCR

مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از مایع محیط کشت (NNN)، ۲۶ نمونه از بیمارانی که دارای زخم (حاد) بودند داخل میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری انتقال یافت. نمونه‌ها پس از سانتریفوژ با سرم فیزیولوژی سه بار شستشو و رسوب حاصل جهت استخراج DNA با کیت تکاپوزیست ساخت کره، مورد استفاده قرارگرفت. پس از جدا سازی DNA، جهت ارزیابی آن از روش اسپیکتروفتومتری در طول موج ۲۶۰ نانومتر، استفاده گردید. روش Nested-PCR بر اساس روش نویز و همکاران انجام شد. در این روش با استفاده از

پرایمرهای اختصاصی مربوط به بخش متغیّر minicircle های لیشمانیا، گونه انگل تعیین گردید (۱۶).

در مرحله اول PCR از پرایمرهای اختصاصی CSB1XR (5́ATTTTTCGCGATTTTCGCAGAACG3́) و CSB2XF (5́CGAGTAGCAGAAACTCCCGTTCA3́) و در مرحله دوم از پرایمرهای اختصاصی (5́ACTGGGGGTTGGTGTAAAATAG3) 13Z و (5́TCGCAGAACGCCCCT3́) LiR استفاده شد. این پرایمرها قادرند قطعه متغیّر minicircle های تمام انواع لیشمانیاها را تکثیر کنند. طول این قطعه تکثیر شده در مورد *L. tropica* در حدود ۷۵۰bp، در *L. infantum* حدود ۶۸۰ bp و برای *L. major* حدود ۵۶۰ bp می‌باشد (۱۸،۲۰،۲۱).

برای انجام واکنش PCR از پرایمرهای اختصاصی به همراه مواد مخلوط PCR یعنی (0.4 µl) Taq polymerase، (0.5µl) dNTP، (1µl) $MgCl_2$، (µl 2.5) PCR Buffer، (0.5+0.5µl) primers، (16.60µl) D.W و (3µl) DNA sample استفاده شد. حجم کل واکنش 25 µl بود (تمامی مواد مورد استفاده در واکنش PCR از شرکت Roche آلمان تهیه گردید) و از شرایط استاندارد در ترموسایکلر (ساخت شرکت اپندرف آلمان) استفاده گردید. برای اطمینان از صحت انجام PCR، در هر نوبت PCR، یک نمونه کنترل مثبت *L. major* (MRHO/IR/64/Nadim-1strain) و *L. tropica* (MHOM/sudan/58/OD strain) و هم‌چنین کنترل منفی همراه نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت (۲۲) و در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شد. برنامه داده شده به دستگاه به‌ترتیب زیر بود:

مرحله اول: حرارت ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه.

مرحله دوم: ۱- دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه ۲- دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه ۳- دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۶۰ ثانیه.

مرحله دوم به‌صورت متوالی ۳۰ بار تکرار گردید.

مرحله سوم: دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه.

مجموع زمان این مرحله از PCR حدود ۲ ساعت و ۳۰ دقیقه بود. محصول به‌دست آمده از این مرحله در PCR مرحله دوم استفاده گردید و مشابه با مراحل اول PCR انجام شد.

الکتروفورز و اسکن محصول PCR

مقدار ۵ میکرولیتر از محصول هر واکنش PCR در ژل آگاروز ۱/۵٪ به‌مدت ۸۰ دقیقه با ولتاژ ۱۰۰ میلی‌آمپر الکتروفورز، سپس در دستگاه ژل داکیومنتیشن با اشعه UV مشاهده و عکس‌ها ذخیره گردید. برای محاسبه اندازه باندهای مشاهده شده در ژل از مارکر (ladder) 100bp استفاده گردید.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS وآزمون آماری χ^2 مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفت و به‌صورت جدول و نمودار نشان داده شد.

نتایج

در این بررسی ۳۵۱۶ نفر از اهالی شهر و حومه محمدآباد از نظر وجود زخم فعال لیشمانیوز جلدی مورد بررسی قرار گرفتند. این جمعیت شامل ۴۹/۶٪ (۱۷۴۳ نفر) مؤنث و ۵۰/۴٪ (۱۷۷۳ نفر) مذکر بود. گروه سنی ۴۰-۳۱ سال حداقل افراد (۱۳/۴٪=۴۷۰ نفر) و گروه سنی بالای ۴۰ سال حداکثر افراد (۲۹٪=۱۰۲۱ نفر) را به خود اختصاص دادند (جدول ۱).

در مجموع شیوع آلودگی به لیشمانیوز پوستی۵/۳٪ بود که به نسبت ۶/۲٪ در جنس مؤنث و ۴/۵٪ در جنس مذکر وجود داشت. جمعاً ۰/۷٪ موارد مبتلا به زخم فعال و ۴/۶٪ مبتلا به اسکار بودند. از ۶/۲٪ افراد آلوده در جنس مؤنث، ۱٪ دارای زخم فعال و ۵/۲٪ اسکار داشتند در صورتی که از ۴/۵٪ در جنس مذکر، ۰/۵٪ زخم فعال و ۴٪ اسکار داشتند. از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین دو جنس مشاهده گردید ($P<0/05$، جدول ۲).

جدول ۱. *توزیع فراوانی جمعیت بخش محمدآباد، شهرستان جیرفت، استان کرمان، بر حسب جنس و سن، ۱۳۸۷*

گروه سنی(سال) / تعداد (درصد)	مؤنث	مذکر	جمع
≤۱۰	(۱۴/۷) ۲۵۷	(۱۴/۳) ۲۵۴	(۱۴/۵)۵۱۱
۱۱-۲۰	(۲۰/۳)۳۵۴	(۲۰/۸)۳۶۹	(۲۰/۶)۷۲۳
۲۱-۳۰	(۲۰/۷)۳۶۰	(۲۴/۳)۴۳۱	(۲۲/۵)۷۹۱
۳۱-۴۰	(۱۴/۱) ۲۴۶	(۱۲/۶)۲۲۴	(۱۳/۴)۴۷۰
>۴۰	(۳۰/۲)۵۲۶	(۲۷/۹)۴۹۵	(۲۹)۱۰۲۱
جمع	(۱۰۰)۱۷۴۳	(۱۰۰)۱۷۷۳	(۱۰۰)۳۵۱۶

جدول ۲. *میزان فراوانی زخم فعال و اسکار لیشمانیوز پوستی نوع شهری در بخش محمدآباد، شهرستان جیرفت، استان کرمان، بر حسب جنس، ۱۳۸۷*

جنس / تعداد (درصد)	زخم فعال	اسکار	جمع
مؤنث	(۱) ۱۷	(۵/۲) ۹۱	(۶/۲) ۱۰۸
مذکر	(۰/۵) ۹	(۴) ۷۱	(۴/۵)۸۰
جمع	(۰/۷) ۲۶	(۴/۶) ۱۶۲	(۵/۳)۱۸۸

بیشترین میزان آلودگی در گروه سنی ۲۰-۱۱ سال (۱۰/۵٪) و کمترین میزان در گروه سنی ۳۰-۲۱ سال (۳٪) مشاهده شد. بیشترین زخم فعال (۲/۲٪) مربوط به گروه سنی زیر ۱۰ سال و کمترین آن (۰٪) در گروه سنی ۳۰-۲۱ سال دیده شد. حداکثر شیوع آلودگی مربوط به اسکار (۹/۸٪) در گروه‌های سنی ۲۰-۱۱سال و کمترین شیوع آلودگی به اسکار (۲/۸٪) در گروه سنی ۴۰-۳۱ سال وجود داشت. از لحاظ توزیع فراوانی زخم فعال و اسکار در افراد مبتلا بر حسب سن تفاوت معنی‌داری دیده شد (P<۰/۰۵، جدول ۳).

شیوع بیماری طی سال‌های قبل از ۱۳۷۶ به‌صورت تک‌گیر و بعد از آن به‌صورت اندمیک با درجه بومی‌گرایی بسیار پایین گزارش شده است. موارد بیماری بعد از سال ۱۳۸۲ هم‌زمان با زلزله بم افزایش یافته و حداکثر موارد مربوط به سال ۱۳۸۵ بوده‌است (جدول۴).

جدول ۳. *میزان فراوانی لیشمانیوز پوستی نوع شهری در بخش محمدآباد، شهرستان جیرفت، استان کرمان، بر حسب سن، ۱۳۸۷*

جنس / تعداد (درصد)	زخم فعال	اسکار	جمع
≤۱۰	(۲/۲) ۱۱	(۳/۷) ۱۹	(۵/۹)۳۰
۱۱-۲۰	(۰/۷)۵	(۹/۸)۷۱	(۱۰/۵)۷۶
۲۱-۳۰	(۰)۰	(۳)۲۴	(۳)۲۴
۳۱-۴۰	(۰/۴)۲	(۲/۸)۱۳	(۳/۲)۱۵
>۴۰	(۰/۸)۸	(۳/۳)۳۵	(۴/۱)۴۳
جمع	(۰/۷)۲۶	(۴/۶)۱۶۲	(۵/۳)۱۸۸

جدول ۴. *میزان فراوانی لیشمانیوز پوستی نوع شهری در بخش محمدآباد، شهرستان جیرفت، استان کرمان، بر حسب سال ابتلا*

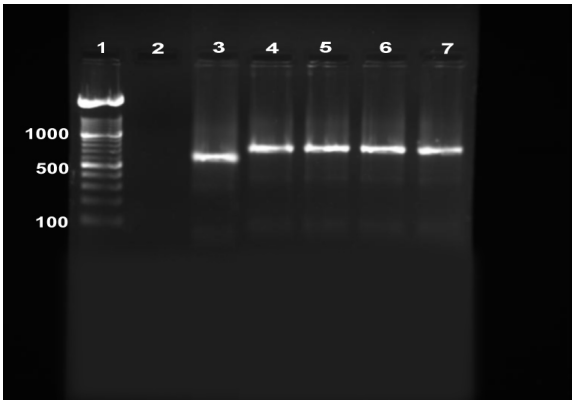
سال ابتلا / تعداد	زخم فعال	اسکار	جمع
۸۲-۱۳۷۶	۰	۷	۷
۸۵-۱۳۸۳	۱	۱۲۰	۱۲۱
۸۷-۱۳۸۶	۲۵	۳۵	۶۰
جمع	۲۶	۱۶۲	۱۸۸

بیشتر ضایعات پوستی در صورت (۴۷٪)، سپس در دست (۳۴٪)، پا (۵٪) و چند محل (۱۴٪) مشاهده شد (نمودار ۱).

از کل نمونه‌های مبتلا به لیشمانیوز پوستی ۶۴٪ تک‌زخم، ۲۹٪ دوزخم و ۷٪ سه زخم یا بیشتر، بودند (نمودار ۲).

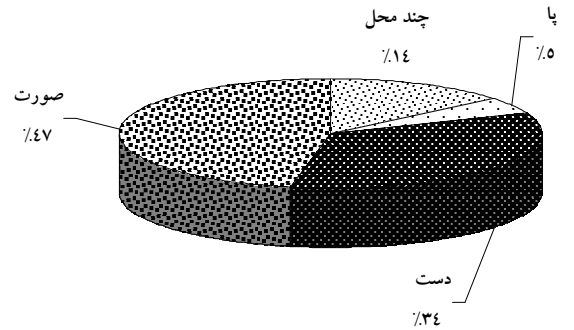
بیشتر مبتلایان را افراد بومی (۴/۷٪) و بعد از آن غیربومی (۰/۶٪) تشکیل دادند.

آمپلیفیکاسیون PCR بر روی DNA جداشده از پروماستیگوت‌ها تمامی نمونه‌های جدا شده از مبتلایان انگل عامل بیماری را لیشمانیا تروپیکا نشان داد (تصویر ۱).

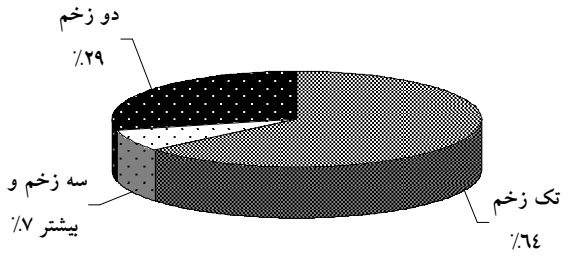


تصویر ۱. *تصویر نهایی ژل Nested-PCR*

تصویر ژل بالا شامل الگوی مربوط به باندهای حاصل از انجام روش Nested-PCR مرحله دوم با تعدادی از ایزوله‌های لیشمانیوز جلدی محمدآباد همراه با سویه‌های استاندارد را نشان می‌دهد. جایگاه شماره۱: مارکر bp ۱۰۰، جایگاه شماره ۲: کنترل منفی، جایگاه شماره ۳: سویه استاندارد لیشمانیا ماژور (MRHO/IR /64/Nadim-1strain) در ناحیه bp۵۶۰، جایگاه شماره ۴: سویه استاندارد لیشمانیا تروپیکا (MHOM/Sudan/58/OD strain) در ناحیه bp ۷۵۰ و جایگاه شماره ۵ و ۶ و ۷ مربوط به ایزوله‌های تعیین هویت شده محمدآباد است که قطعه‌ای معادل bp۷۵۰ نشان می‌دهد که مطابقت با گونه لیشمانیا تروپیکادارد.



نمودار ۱. *میزان فراوانی لیشمانیوز پوستی زخم فعال و اسکار نوع شهری در بخش محمدآباد ، شهرستان جیرفت، استان کرمان، بر حسب محل ضایعه، ۱۳۸۷*



نمودار ۲. *میزان فراوانی زخم فعال و اسکار لیشمانیوز پوستی نوع شهری در بخش محمدآباد، شهرستان جیرفت ، استان کرمان، بر حسب تعداد ضایعه، ۱۳۸۷*

بحث

لیشمانیوز پوستی هنوز از چالش‌های بهداشتی جهان و کشورمان می‌باشد که موارد آن در سال‌های اخیر فزونی‌یافته و در بعضی از مناطق به‌صورت اپیدمیک ظاهر شده‌است (۱). به‌علت تنوع اشکال بالینی بیماری و تعدد سویه‌ها و گونه‌ها، امکان تمایز دقیق با روش‌های قبلی که عمدتاً مبتنی بر شواهد خارجی هستند، بسیار دشوار است. علاوه بر این عوامل بسیار متعددی از قبیل تغییر الگوی زندگی و مسافرت، مهاجرت‌های بی‌رویه، هجوم پناهندگان و آوارگان ناشی از جنگ، همگی در انتشار و دگرگونی چهره اپیدمیولوژیک و بالینی بیماری، کمک نموده‌است (۶).

بر اساس نتایج شیوع کلی آلودگی ۵/۳٪ بود که در جنس مؤنث (۶/۲٪) به‌طور معنی‌داری از جنس مذکر (۴/۵٪) بیشتر بود (P<۰/۰۵). گرچه علت تفاوت بین این دو جنس به‌درستی روشن نیست، به‌نظر می‌رسد که جنس مؤنث بیشتر در معرض منابع آلوده و گزش پشه خاکی نسبت به جنس مذکر، قرار گرفته است. در مطالعات مشابهی از شهر بم میزان آلودگی در جنس مؤنث در برخی موارد بالاتر (۱۵) و در بعضی دیگر مشابه با جنس مذکر گزارش شده است (۹). از طرفی دیگر برخی محققین این

تفاوت آلودگی در دو جنس را مرتبط با فاکتورهای محیطی و فردی دانسته‌اند (۶،۲۴).

در بررسی حاضر بیشترین فراوانی آلودگی مربوط به گروه سنی ۲۰-۱۱ سال (۱۰/۵٪) و کمترین آن مربوط به گروه سنی ۳۰-۲۱ سال (۳٪) بود که از نظر میزان ابتلا بر حسب سن اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). هم‌چنین بیش از ۵۰٪ نمونه‌های مثبت مربوط به گروه سنی زیر ۳۰ سال بود. اما در مقایسه با بررسی‌های دیگر میزان شیوع بر حسب سن یکسان نبود. در بررسی ندیم و افلاطونیان در سال ۱۳۷۱ بیشترین گروه سنی درگیر ۱۸-۱۲ سال بوده‌است (۲۵) و هم‌چنین در بررسی شریفی و همکاران بر روی ۱۱۵۱۷ نفر، بیشترین شیوع در سنین حدود ۱۱ سال و یا بالاتر بود که البته در مطالعه مذکور اغلب دانش‌آموزان سنین زیر ۱۱ سال، مورد بررسی قرار گرفتند (۹).

از نظر محل ضایعات پوستی، بیشتر آنها در صورت و بعد از آن به‌ترتیب در روی دست و پا دیده شد که این ویژگی از مؤلفه‌های بارز لیشمانیوز پوستی نوع شهری می‌باشد. در بررسی حاضر، براساس روش Nested-PCR گونه انگل، لیشمانیا تروپیکا مشخص گردید که با گزارشات دیگران از شهرستان هم‌جوار بم هم‌خوانی دارد (۹،۱۵). بررسی تعداد ضایعات پوستی مبتلایان نشان می‌دهد که بیشتر آنها تک‌زخم (۶۴٪) و بعد از آن دو زخم (۲۹٪) یا سه زخم و بیشتر (۷٪) بودند. این مشخصه نیز مؤید سیمای اپیدمیولوژیکی لیشمانیوز پوستی نوع شهری است که در این مطالعه دیده می‌شود. مقایسه این یافته‌ها با نتایج دیگران (۹،۱۵) به‌خوبی مطابقت دارد. لیشمانیوز پوستی در شهر بم که در همسایگی این منطقه قرار دارد به‌طور غالب از نوع شهری و عامل آن لیشمانیا تروپیکا می‌باشد (۱۰،۲۵).

آلودگی سالک در افراد بومی (۴/۷٪) بیشتر از افراد غیربومی (۶٪) مشاهده شد. توزیع فراوانی زخم فعال و اسکار در افراد مبتلا به سالک بر حسب بومی و غیربومی بودن معنی‌دارشد (P<۰/۰۵).

در مجموع ۰/۷٪ بیماران زخم فعال و ۴/۶٪ اسکار داشتند. نسبت ضایعات پوستی نشان می‌دهد که این کانون نسبتاً قدیمی است که از چند سال قبل در این منطقه وجود داشته است. در بررسی روند بیماری گرچه مواردی از بیماری از سال‌های قبل از زلزله بم (سال ۱۳۸۲) با اندمیسیته بسیار پایین وجود داشته است، ولی اغلب موارد به سال‌های بعد از زلزله بم به‌ویژه سال ۱۳۸۵ مربوط می‌شود. شهر و حومه محمدآباد در مجاورت شهرستان بم قرار دارد یعنی در جایی که لیشمانیوز پوستی نوع شهری بومی است و قدمت دیرین دارد. تردد افراد از این منطقه به شهر بم طی سال‌های بعد از زلزله به دلیل فراهم شدن زمینه‌های اشتغال و مشارکت در امور ساخت‌وساز موجب افزایش موارد سالک شده‌است. علاوه بر این، با توجه به اینکه شهر و حومه محمدآباد یک منطقه ییلاقی با شرایط آب‌وهوایی بسیار مساعدی است، اهالی بم در سال‌های بعد از زلزله به‌ویژه در بهار و تابستان ترددهای زیادی به این منطقه داشته‌اند.

Gangneux و همکاران در سال ۲۰۰۳ حساسیت و ویژگی PCR را به‌ترتیب ۹۲٪ و ۱۰۰٪ گزارش کرده‌اند (۲۳). به‌دلیل این حساسیت و ویژگی بالای PCR در افتراق گونه‌های عامل سالک، در بررسی حاضر از این روش استفاده شده است. در مجموع تعداد ۲۶ نمونه به محیط کشت تلقیح و با روش PCR مورد ارزیابی قرار گرفت (۹،۱۵،۲۰). در تمامی این نمونه‌ها گونه عامل بیماری لیشمانیا تروپیکا تعیین هویت گردید که با گونه عامل لیشمانیوز پوستی در شهر بم مطابقت دارد. در بررسی مراغی و همکاران در شوش خوزستان با روش Nested-PCR، گونه منطقه مورد بررسی لیشمانیا ماژور (۹۰٪) و لیشمانیا تروپیکا (۱۰٪) شناسایی گردید (۲۰) و هم‌چنین در بررسی رزمجو و همکاران در شیراز با همین روش لیشمانیا ماژور تعیین هویت گردید (۲۱).

نتیجه‌گیری

این بررسی در منطقه ییلاقی شمال شهرستان جیرفت مجاور با شهرستان بم صورت گرفته است که وجود شرایط لازم و عوامل اکولوژیک مناسب این منطقه در تثبیت لیشمانیوز پوستی نوع شهری و افزایش موارد در سال‌های بعدی، نقش مهمی، ایفا نموده‌است.

بررسی مولکولی نشان داد که در این منطقه لیشمانیا تروپیکا عامل اصلی لیشمانیوز پوستی بوده‌است که می‌توان نسبت به کنترل، پیشگیری و درمان بیماری برنامه‌ریزی کرد. با توجه به مشکلاتی که هم‌اکنون این بیماری در بین اهالی و مسؤولین این منطقه ایجاد کرده است می‌توان نسبت به اجرای برنامه‌های بهداشتی مناسب اقدام نمود تا از بروز بیماری پیش‌گیری شده و از نگرانی اهالی این منطقه کاسته شود.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مرکز تحقیقات لیشمانیوز و حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان به لحاظ تأمین اعتبار این طرح قدردانی می‌شود.

The Prevalence of Cutaneous Leishmaniasis in the City and Suburb of Mohammadabad, Jiroft District and Identification of Parasite Species by Nested-PCR, 2008

Poursmaelian S., M.Sc.[1], Mirzaei M., Ph.D.[2], Sharifi I., Ph.D.[3*], Zarean M., M.Sc.[1]

1. Master of Veterinary Parasitology, Leishmaniasis Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
2. Assistant Professor, Parasitology Department, School of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran
3. Professor of Parasitology, Leishmaniasis Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

* Corresponding author; e-mail: iraj.sharifi@yahoo.com

(Received: 13 July 2010 Accepted: 1 Dec. 2010)

Abstract

Background & Aims: Cutaneous leishmaniasis (CL) is a health problem in the world, including Iran. The objective of this study was to assess the epidemiology of CL and determination of the causative parasite species in the city and suburb of Mohammadabad, Jiroft district.

Method: This descriptive and cross-sectional study was performed in census manner. Diagnosis was based on direct smear microscopy and Nested-PCR technique was applied for the identification of species.

Results: Overall, 3516 individuals consisting of 1743 females (49.6%) and 1773 males (50.4%) were physically examined for the presence of active lesion or scar. The prevalence rate was 6.2% in female and 4.5% in male subjects with a significant difference ($P<0.05$). Most of the infection was in the age group of 11-20 years (10.5%) and the lowest was in the age group of 21-30 year (3%). Most of the lesions were on the face (47%) and the majority (64%) had one lesion. Based on Nested-PCR technique all examined cases were *Leishmania tropica.*

Conclusion: This study has been conducted for the first time in north of Jiroft district in proximity of Bam district. Increasing rate of this disease after the earthquake and in accordance with the epidemic condition in the city of Bam is due to the frequent traveling of people to this rural area.

Keywords: Cutaneous Leishmaniasis, Epidemiology, *Leishmania Species,* Nested-PCR, Jiroft

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2011; 18(3): 218-227

References

1. Desjeux P. Leishmaniasis: Current situation and new perspectives. *Com Immunol Microbiol Infect Dis* 2004; 27(5): 305-18
2. Rastogi V, Nirwan PS. Cutaneous Leishmaniasis: an emerging infection in a non-endemid area and a brief update. *Indian J Med Microbiol* 2007; 25(3): 272-5.
3. Fazaeli A, Fouladi B, Sharifi I. Emergence of cutaneous leishmaniasis in a border area at south–east of Iran: an epidemiological survey. *J Vector Borne Dis* 2009; 46(1): 36-42.
4. Emami MM, Yazdi M, Nilforoushzadeh M. Emergence of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania major* in a new focus of central Iran. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2009; 103(12): 1257-62.
5. Soccol VT, de Castro EA, nell e Schuhll S, de Carvalho Y, Marques E, Pereira EF, et al. A new focus of cutaneous leishmaniasis in the centeral area of Parana State, southern Brazil. *Acta Trop* 2009; 111(3): 308-15.
6. Desjeux P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001; 95(3): 239-43.
7. Aflatoonian MR, Sharifi I. Prevalence rate of cutaneous leishmaniasis in Bam district during 20 Years (1988-2007). *J of Kerman Univ Med Sci* 2010; 17(4): 297-306 [Persian].
8. Center for Management of Diseases, Office of Zoonotic Diseases Control, Ministry of Health and Medical Education. Management of Cutaneous Leishmaniasis Program for Bam. 2008; pp1-56 [Persian].
9. Sharifi I, Fekri AR, Aflatoonian MR, Nadim A, Nikian Y, Khamesipour A. Cutaneous leishmaniasis in primary school children in the South-eastern Iranian city of Bam, 1994-95. *Bull World Health Organization* 1998; 76(3): 289-93.
10. Sharifi I, Zamani I, Fekri AR. A report of cutaneous leishmaniasis epidemic and its probable causative factors in Baft district, Kerman province. *Iranian J Epidemiol* 2008; 4(1): 53-8.
11. Yaghoobi–Ershadi MR, Hanafi-Bojd AA, Akhavan AA, Zahrai-Ramazani AR, Mohebali M. Epidemiological study in a new focus of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania major* in Ardestan town, central Iran. *Acta Tropica* 2001; 79 (2): 115-21.
12. Hadighi R, Mohebali M, Bocher P, Hajjaran H, Khamesipour A, Oullette M. Unresponsiveness to glucantime treatment in Iranian cutaneous leishmaniasis due to drug-resistant *Leishmania tropica* parasites. *PLoS Med* 2006; 3(5): 162.
13. Pour R, Sharifi I, Kazemi B, Zarean M. Identification of nonresponsive isolates to glucantime in patients with cutaneous leishmaniasis in Bam. *J Kerman Uni Med Sci* 2011; 18(2): 123-33 [Persian].
14. Moemenbellah- Fard MD, Kalantari M, Rassi Y, Javadian E. The PCR- based detection of *Leishmania major* infections in *Meriones libycus* (Rodentia: Muridae) from southern Iran. *Ann Trop Med Parasitol* 2003; 97(8): 811-6.
15. Sharifi I, Ardehali S, Motazedian H, Aflatoonian MR, Fekri AR, Ahmadi Mousavi MR, *et al*. Identification and characterization of *Leismania* isolates in school children in Bam, south- eastern Iran. *Iranian J Med Sci* 1994; 22(3,4): 82-8.
16. Yaghoobi-Ershadi MR, Hanafi-Bojd AA, Javadian E, Jafari R, Zahraie-Ramazani AR,

Mohebali M. A new focus of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania tropica*. *Saudi Med J* 2002; 23(3): 291-4.

17. Mohajery M, Hajjaran H, Shamsian A, Tavakolafshari J, Saadabadi F. Identification of cutaneous leishmaniasis species in the city of Naishapour by RAPD PCR. *J Mashhad Univ Med Sci* 2008; 100: 79-86 [Persian]

18. Noyes HA, Heyburn H, Bailey JW, Smith D. A Nested-PCR based schizodeme method for identifying *Leishmania* kinetoplast mini-circle classes directly from clinical samples and its application on the study of the epidemiology of *Leishmania tropica* in Pakistan. *J Clin Microbiol* 1998; 36(10): 2877-81.

19. Kumar R, Bumb RA, Ansari NA, Mehta RD, Salotra P. Cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania tropica* in Bikaner, India: parasite identification and characterization using molecular and immunologic tools. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 76(5): 896-901.

20. Maraghi S, Samarbafzadeh A, Sarlak AA, Ghasemian M, Vazirianzadeh B. Identification of cutaneous leishmaniasis agents by Nested polymerase chain reaction (Nested-PCR) in Shush City, Khuzestan, province, Iran. *Iranian J Parasitol* 2007; 2(3): 13-5.

21. Razmjou SH, Hejazy HO, Motazedian MH, Baghaei ME, Emamy M, Kalantary M. A new focus of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Shiraz, Iran. *Tran R Soc Trop Med Hyp* 2009; 103: 727-30.

22. Poursmaelian S, Sharifi I, Aflatoonian MR, Fotouhi Ardekani R, Mirzaei M, Barati M. A new focus of anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Dehbakry region of Bam District, southeastern Iran 2008. *J Kerman Univ Med Sci* 2010; 17(1): 15-24 [Persian].

23. Gangneux JP, Menotti J, Lorenzo F, Sarfati C, Blanche H, Bui H, *et al*. prospective value of PCR amplification and sequencing for diagnosis and typing of old world *Leishmania* infections in an area of nonendemicity. *J Clin Microbiol* 2003; 41(4): 1419-22.

24. Reithinger R, Mohsen M, Leslie T. Risk factors for anthroponotic cutaneous leishmaniasis at the household level in Kabul, Afghanistan. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4(3): e639.

25. Nadim A, Aflatonian MR. Anthrponotic cutaneous leishmaniasis in the Bam, southeast Iran. *Iranian J Publ Health* 1995; 24: 1-2.