

## شناسایی یک کانون جدید لیشمائیوز پوستی نوع شهری در بخش دهبکری، شهرستان بم در استان کرمان، جنوب شرقی ایران، ۱۳۸۷

سمیه پوراسماعیلیان<sup>۱</sup>، دکتر ایرج شریفی\*<sup>۲</sup>، دکتر محمدرضا افلاطونیان<sup>۳</sup>، رضا فتوحی اردکانی<sup>۴</sup>، دکتر محمد میرزایی<sup>۵</sup>، محمد براتی<sup>۶</sup>

### خلاصه

مقدمه: لیشمائیوز پوستی هنوز یکی از مشکلات بهداشتی جهان من جمله ایران بوده که در سالهای اخیر به طور قابل توجهی افزایش یافته است. هدف از این مطالعه، شناسایی یک کانون جدید از لیشمائیوز پوستی نوع شهری در روستاهای شهرستان بم طی سالهای بعد از زلزله می باشد. روش: این مطالعه در پی گزارش مسئولین بهداشتی در تابستان ۱۳۸۷ در بخش دهبکری از شهرستان بم جهت تعیین اپیدمیولوژی و گونه عامل لیشمائیوز پوستی، انجام گردید. یافته ها: جمعاً ۳۸۸۴ نفر شامل ۱۹۱۳ نفر (۴۹/۳٪) مؤنث و ۱۹۷۱ نفر (۵۰/۷٪) مذکر از نظر وجود ضایعه فعال یا اسکار سالک مورد معاینه پزشکی قرار گرفتند. شیوع کلی آلودگی ۵/۳٪، در جنس مؤنث ۶/۳٪ و در جنس مذکر ۴/۳٪ بود، که هیچ گونه اختلاف آماری معنی داری بین دو جنس مشاهده نشد. بیشترین آلودگی (۹/۳٪) در گروه سنی زیر ۱۰ سال و کمترین آن (۲/۹٪) در گروه سنی ۲۱-۳۰ سال دیده شد. شیوع آلودگی به طور معنی داری در اهالی بومی (۴/۱٪) بیشتر از افراد غیربومی (۱/۱٪) بود ( $P < 0/001$ ). بیشتر ضایعات در صورت (۴۷٪)، دست (۳۴٪)، پا (۹٪)، نقاط دیگر (۱۰٪) و اکثر آنها تک زخم (۷۸٪) بودند. بیماری به تدریج بعد از زلزله سال ۱۳۸۲ در این روستاها بروز نموده، ولی بیشتر موارد طی سال ۱۳۸۵ روی داده است. روش PCR، گونه انگل عامل لیشمائیوز پوستی ۲۶ ایزوله مورد بررسی در این منطقه روستایی را، لیشمانیا تروپیکا مشخص نمود. نتیجه گیری: تمامی موارد بیماری در سالهای بعد از زلزله، همزمان با بروز اپیدمی بیماری در شهر بم، به لحاظ تردد و استفاده بیشتر اهالی از این منطقه خوش آب و هوا و بیلاقی، روی داده است. واژه های کلیدی: لیشمائیوز پوستی، اپیدمیولوژی، بم

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد انگل شناسی، گروه پاتوبیولوژی، بخش انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان ۲- استاد مرکز تحقیقات لیشمائیوز و گروه انگل شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۳- مربی، مرکز تحقیقات لیشمائیوز، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۴- مربی، گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی افضلی پور و مرکز تحقیقات لیشمائیوز، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۵- استادیار گروه پاتوبیولوژی، بخش انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان ۶- کارشناس ارشد انگل شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات لیشمائیوز و دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

\* نویسنده مسؤول، آدرس: گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی افضلی پور، ابتدای جاده هفت باغ، کرمان • آدرس پست الکترونیک: iraj.sharifi@yahoo.com

پذیرش مقاله: ۱۳۸۷/۸

دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۷/۴/۳۰

دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۲/۲۰

## مقدمه

لیشمانيوز بر اساس نظر سازمان جهانی بهداشت (WHO) یکی از بیماری‌های مهم انگلی دنیا محسوب می‌شود و جزء سه بیماری اول (تریپانوزومیازیس آفریقایی، تب دانگ، لیشمانيوز) مرکز تحقیقات بیماری‌های گرمسیری دنیا طبقه‌بندی شده است (۱،۲). لیشمانيوز از بیماری‌های مشترک بین حیوان و انسان بوده که در اغلب نقاط دنیا به‌ویژه در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری دیده می‌شود و به شکل ضایعات پوستی (سالک)، احشایی (کالاآزار) و پوستی - مخاطی (اسپوندیا) بروز می‌کند (۳،۴).

بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت، لیشمانيوز به‌طور اندمیک در ۸۸ کشور جهان وجود دارد که از این میان ۷۲ کشور جزء کشورهای در حال توسعه می‌باشند. در حال حاضر بیش از ۱۲ میلیون نفر در جهان به این بیماری مبتلا بوده و حداقل ۳۵۰ میلیون نفر در معرض ابتلا به آن هستند (۱). بروز جهانی آن ۱/۵ تا ۲ میلیون نفر در سال گزارش شده است که حدود ۵۰۰ هزار مورد آن احشایی و بقیه موارد مربوط به لیشمانيوز پوستی و پوستی - مخاطی می‌باشند (۱،۲).

لیشمانيوز جلدی هنوز هم یکی از مشکلات بهداشتی جهان بوده و بیش از ۹۰ درصد موارد آن در خاورمیانه (ایران، عراق، عربستان، افغانستان، سوریه)، پرو و نپال قرارداد (۱،۲). این بیماری در کشورمان در حال افزایش است به نحوی که در ۱۵ استان کشور انتشار دارد (۵) و در سال‌های اخیر کانون‌های لیشمانيوز پوستی از بخش‌های جنوب شرقی کشور مانند شهرهای کرمان، بم، رفسنجان، جیرفت، بافت، شهر بابک و سیرجان در استان کرمان گزارش شده است (۱۱-۶).

بر اساس گزارش مرکز مدیریت بیماری‌ها، تعداد مبتلایان به انواع مختلف لیشمانيوز در کشور ما سالیانه حدود ۲۰ هزار نفر است ولی بدون شک رقم واقعی مبتلایان ۴ تا

۵ برابر این تعداد می‌باشد و حدود ۸۰ درصد این موارد مربوط به لیشمانيوز جلدی نوع روستایی است (۵). در ایران دو گونه لیشمانيوز مازور و لیشمانيوز تروپیکا عامل لیشمانيوز جلدی می‌باشند. لیشمانيوز تروپیکا عامل لیشمانيوز پوستی نوع شهری است که توسط فلبوتوموس سرزنتی انتقال می‌یابد. از کانون‌های مهم این بیماری می‌توان به شهرهای تهران (شمال غرب تهران)، مشهد، نیشابور، شیراز، کرمان، بم و یزد اشاره نمود. در شهرهای آلوده، بیماری فرم یکنواخت 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 به علت مهاجرت، تغییرات آب و هوایی و عوامل محیطی به نواحی مجاور نیز کشیده شود (۱۳-۱۱، ۵).

تشخیص لیشمانيوز پوستی با نمونه برداری از حاشیه زخم، تهیه گسترش، رنگ آمیزی با یکی از رنگ‌های رومانوفسکی (گیمسا، رایت یا لیشمن)، بررسی میکروسکوپی و دیدن اجسام لیشمان (آماستیگوت‌ها) صورت می‌گیرد. افتراق لیشمانيوز تروپیکا و لیشمانيوز مازور بر اساس مورفولوژی انگل امکان‌پذیر نبوده ولی امروزه با استفاده از روش‌های ملکولی این کار میسر شده است (۱۴، ۱۲، ۱۰، ۴). در سال‌های اخیر به دلیل افزایش جمعیت، فاکتورهای شناخته و ناشناخته بسیار و مقاومت تدریجی نسبت به داروها و گسترش نواحی جدیدی که مورد تهاجم ناقلین انگل واقع شده‌اند، مسائل ناشناخته جدیدی در زمینه این بیماری مطرح شده است. تشخیص لیشمانيوز جلدی با استفاده از روش‌های انگل‌شناسی شامل تهیه گسترش مستقیم و کشت از حاشیه زخم علاوه بر پایین بودن حساسیت، تنها قادر به تشخیص موارد در حد جنس انگل می‌باشد و نمی‌توان با این روش گونه عامل بیماری را مشخص کرد. از طرفی با توجه به پیشرفت استفاده از روش‌های ملکولی تشخیص لیشمانيوز جلدی در حد گونه ضروری به نظر می‌رسد. اهمیت این مسئله به لحاظ فراهم

دمای  $24 \pm 2$  درجه سانتی گراد نگهداری و هر ۲ الی ۳ روز یک بار برای رشد پروماستیگوت‌ها، مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفت.

#### استخراج DNA و انجام PCR

۱۰۰ میلی لیتر از مایع محیط کشت NNN داخل میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی لیتری ریخته شد و برای آماده‌سازی نمونه به منظور استخراج DNA، نمونه‌ها پس از سانتریفیوژ با سرم فیزیولوژی سه بار شستشو داده شد و رسوب حاصل جهت استخراج DNA با کیت Cinna Gen DNP Purification Kit و همچنین تعیین گونه انگل لیشمانیا، مورد استفاده قرار گرفت. پس از جداسازی DNA، برای ارزیابی آن از روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۶۰ نانومتر، استفاده گردید. برای انجام PCR از ژنوم اختصاصی گونه به‌ویژه مارکرهای حاصل از کینتوپلاست (kDNA) استفاده گردید و پرایمرهای مورد استفاده شامل یک جفت پرایمر اختصاصی زیر برای مشاهده توالی‌های kDNA لیشمانیا استفاده شد:

5'TCGCAGAACGCCCTACC3': UP Stream

5'AGGGGTGGTGTAAATAGGC3': Down Stream

با این روش دو فراگمنت، یکی بانندی به‌طول ۶۲۰ bp برای تعیین (MRHO/IR /64/Nadim-1strain) L. major و دیگری بانندی معادل ۸۰۰ bp جهت تعیین (MHOM/Sudan/58/OD strain) L. tropica استفاده گردید (۱۴-۱۲).

برای واکنش PCR پرایمرهای اختصاصی به همراه مواد مخلوط PCR، Tag polymeras، dNTP، MgCl<sub>2</sub>، PCR Buffer، در شرایط استاندارد در ترموسایکلر به‌صورت بهینه انجام گردید. برای اطمینان از صحت انجام PCR، در هر نوبت PCR، یک نمونه کنترل مثبت نیز همراه نمونه‌ها استفاده می‌گردید.

کردن بستری مناسب جهت مطالعات داروشناختی و اپیدمیولوژیک، غیرقابل انکار می‌باشد.

لذا در این تحقیق برآن شدیم تا ضمن مطالعه اپیدمیولوژیک لیشمانیوز پوستی با استفاده از تکنیک PCR گونه عامل را در بخش دهبکری، شهرستان بم شناسایی نماییم تا بدین صورت زمینه مساعدی جهت دستیابی به درمانی مناسب به‌وسیله پزشکان و محققین فراهم گردد و از طرفی برنامه‌ریزی لازم برای اقدامات کنترلی توسط مسئولین بهداشتی میسر شود.

#### روش بررسی

مطالعه حاضر از نوع مقطعی-توصیفی بوده و در بخش دهبکری از توابع شهرستان بم از اوایل تیرماه تا اواخر شهریورماه ۱۳۸۷ انجام گردید. نمونه‌ها از ضایعات پوستی با روش مستقیم گرفته شد و تعیین هویت گونه انگل با PCR، و نمونه‌گیری به صورت سرشماری انجام گرفت. با مراجعه به هر منطقه و خانوارهای تحت پوشش، افراد مشکوک به زخم سالک انتخاب گردیده و با تکمیل پرسشنامه مربوطه، مشخصات فردی و بیماری نظیر نام و نام‌خانوادگی، جنس، سن، وضعیت اقامت، محل ضایعه و تعداد ضایعه، ثبت گردید.

#### آزمایش میکروسکوپی

از هر کدام از ضایعات پوستی فعال (حاد) افراد مشکوک، نمونه‌ای جداگانه تهیه شد. نمونه‌ها به کمک دسته بیستوری و تیغ جراحی با خراش دادن کناره متورم زخم پس از ضدعفونی کردن با الکل ۷۰٪ برای تهیه گسترش بر روی لام، قرار داده شد. گسترش‌ها بعد از فیکس کردن با متانول به‌وسیله گیمسا رنگ‌آمیزی و زیر میکروسکوپ برای وجود اجسام لیشمان (آماستیگوت‌ها) مورد بررسی قرار گرفت. هم‌زمان نمونه‌ای دیگر در کنار شعله به محیط کشت NNN انتقال داده شد و در انکوباتور در

**جدول ۱. توزیع فراوانی جمعیت بخش دهبکری، شهرستان بهم،**

استان کرمان، بر حسب سن و جنس، ۱۳۸۷

سن (سال)	فراوانی تعداد (درصد)		
	مؤنث	مذکر	جمع
≤ ۱۰	(۱۷/۶)۳۳۷	(۱۷/۳)۳۴۰	(۱۷/۴)۶۷۷
۱۱-۲۰	(۲۱)۴۰۲	(۲۱)۴۱۳	(۲۱)۸۱۵
۲۱-۳۰	(۲۰/۳)۳۸۹	(۲۰/۴)۴۰۲	(۲۰/۴)۷۹۱
۳۱-۴۰	(۱۳/۹)۲۶۵	(۱۳/۱)۲۵۹	(۱۳/۵)۵۲۴
> ۴۰	(۲۷/۲)۵۲۰	(۲۸/۳)۵۵۷	(۲۷/۸)۱۰۷۷
جمع	(۱۰۰)۱۹۱۳	(۱۰۰)۱۹۷۱	(۱۰۰)۳۸۸۴

**جدول ۲. میزان فراوانی زخم فعال و اسکار لیشمانیوز پوستی نوع**

شهری در بخش دهبکری، شهرستان بهم، استان کرمان، بر حسب

جنس، ۱۳۸۷

جنس	فراوانی تعداد (درصد)		
	زخم فعال	اسکار	جمع
مؤنث	(۲)۳۹	(۴/۲)۸۱	(۶/۳)۱۲۰
مذکر	(۱/۵)۳۰	(۲/۷)۵۴	(۴/۳)۸۴
جمع	(۱/۸)۶۹	(۳/۵)۱۳۵	(۵/۳)۲۰۴

بیشترین شیوع آلودگی لیشمانیوز پوستی مربوط به گروه سنی زیر ۱۰ سال (۹/۳٪) و کمترین آن در گروه سنی ۲۱-۳۰ سال (۲/۹٪) مشاهده شد (نمودار ۱). بیشترین شیوع آلودگی زخم فعال مربوط به گروه سنی زیر ۱۰ سال (۳٪) و کمترین آن در گروه سنی ۲۱-۳۰ سال (۱٪) مشاهده شد. بیشترین شیوع آلودگی مربوط به اسکار در گروه‌های سنی زیر ۱۰ سال (۶/۴٪) و کمترین شیوع آلودگی به اسکار در گروه سنی ۲۱-۳۰ سال (۱/۹٪) مشاهده شد. از لحاظ توزیع فراوانی زخم فعال و اسکار در افراد مبتلا بر حسب سن تفاوت معنی‌داری دیده نشد.

**الکتروفورز و تهیه تصویر از محصول PCR**

مقدار ۵ میکرولیتر از محصول هر واکنش PCR در ژل آگارز ۱/۵ درصد به مدت ۸۰ دقیقه با ولتاژ ۱۰۰ میلی آمپر الکتروفورز گردید. پس از پایان الکتروفورز نتیجه در دستگاه ژل داکيومنتیشن با اشعه UV مشاهده و عکس‌ها ذخیره گردید. برای محاسبه اندازه باندهای مشاهده شده در ژل از مارکر (ladder) 100bp استفاده گردید. مشاهده باندهای با طول 620 bp نشان‌دهنده L. major و باندهای 800 bp نشان‌دهنده L. tropica و عدم مشاهده باند به منزله منفی بودن نمونه تلقی می‌گردید (۱۰، ۱۲، ۱۴).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون توصیفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و به‌صورت جدول و نمودار نشان داده شد.

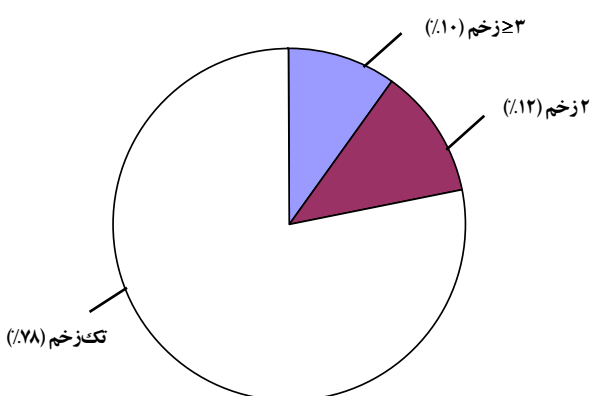
**یافته‌ها**

در این بررسی ۳۸۸۴ نفر از اهالی بخش دهبکری به‌صورت سرشماری از نظر وجود یا فقدان زخم سالک و اسکار مورد بررسی قرار گرفتند. جدول ۱ توزیع فراوانی ۳۸۸۴ نفر از اهالی بخش دهبکری را که شامل ۴۹/۳٪ (۱۹۱۳ نفر) مؤنث و ۵۰/۷٪ (۱۹۷۱ نفر) مذکر می‌باشد، نشان می‌دهد. گروه سنی ۳۱-۴۰ سال حداقل افراد یعنی ۱۳/۵٪ (۵۲۴ نفر) و گروه سنی بالای ۴۰ سال حداکثر افراد یعنی ۲۷/۷٪ (۱۰۷۷ نفر) را به خود اختصاص دادند.

در مجموع شیوع آلودگی لیشمانیوز پوستی ۵/۳٪ بود که در جنس مؤنث ۶/۳٪ و در مذکر ۴/۳٪ مشاهده شد. در مجموع ۱/۸٪ مبتلا به زخم فعال و ۳/۵٪ مبتلا به اسکار بودند. از ۶/۳٪ جنس مؤنث مبتلا به سالک، ۲٪ زخم فعال و ۴/۲٪ اسکار داشتند و در جنس مذکر ۱/۵٪ زخم فعال و ۲/۷٪ اسکار مشاهده شد. از لحاظ توزیع فراوانی افراد مبتلا به سالک بر حسب جنس در کل منطقه مورد مطالعه از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲).

سالک بر حسب تعداد ضایعه، معنی دار شد ( $P < 0/05$ )، نمودار ۳).

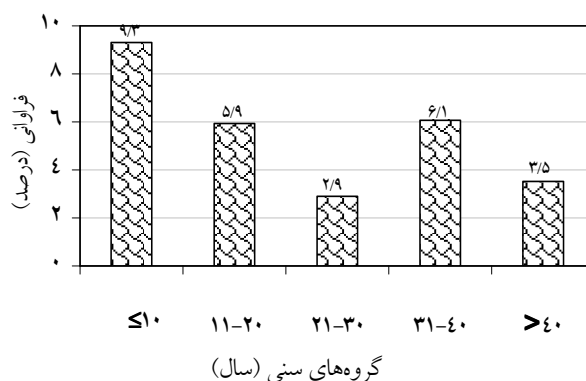
شیوع آلودگی لیشمانیوز پوستی در افراد مبتلا بر حسب محل سکونت، در افراد بومی (۴/۱٪) و در افراد غیربومی (۱/۱٪) مشاهده شد (نمودار ۴) که از این میزان شیوع در بین افراد بومی ۲/۱٪ زخم فعال و ۵/۶٪ اسکار و در بین افراد غیربومی ۱/۴٪ زخم فعال و ۱٪ اسکار مشاهده شد. این تفاوت از نظر آماری معنی دار بود ( $P < 0/001$ ).



نمودار ۳. میزان فراوانی لیشمانیوز پوستی نوع شهری در بخش دهبکری، شهرستان بهم، استان کرمان، برحسب تعداد ضایعه، ۱۳۸۷

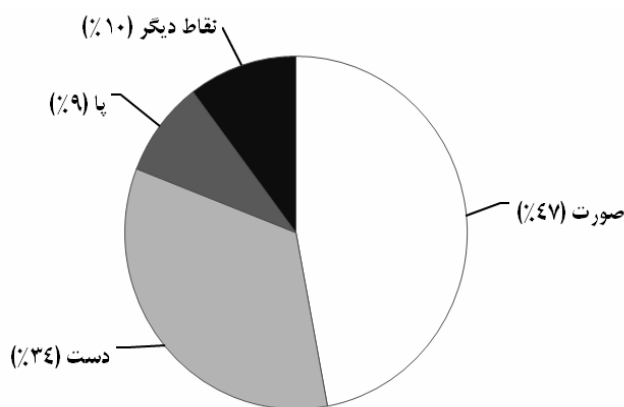


نمودار ۴. میزان فراوانی لیشمانیوز پوستی نوع شهری در بخش دهبکری، شهرستان بهم، استان کرمان، برحسب نوع سکونت، ۱۳۸۷



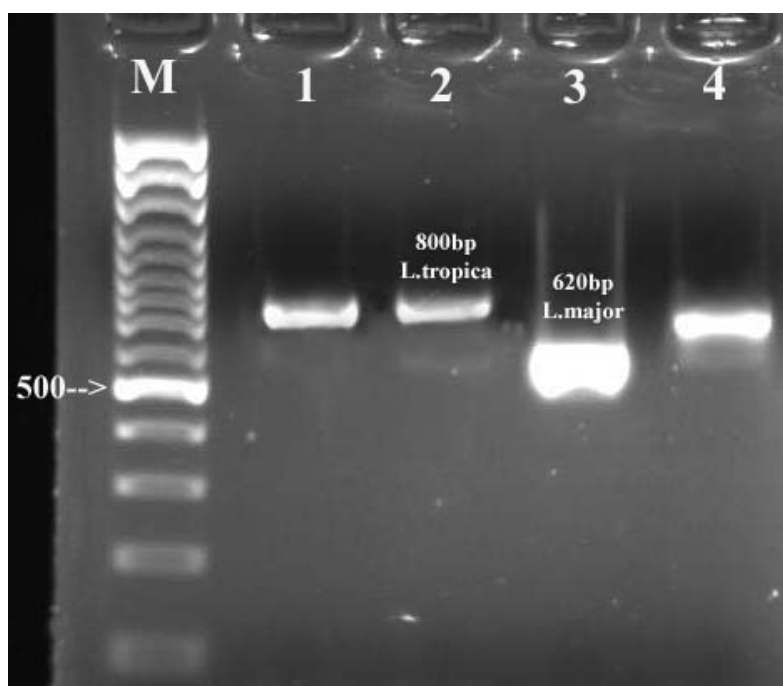
نمودار ۱. میزان فراوانی لیشمانیوز پوستی نوع شهری در بخش دهبکری، شهرستان بهم، استان کرمان، برحسب سن، ۱۳۸۷

فراوانی زخم فعال بر حسب محل ضایعه نشان داد که بیشترین موارد زخم مربوط به ناحیه صورت (۴۷٪)، دست (۳۴٪) و کمترین محل مبتلا مربوط به پا (۵/۸٪) بود (نمودار ۲). همچنین بیشترین موارد اسکار مربوط به صورت (۴۹/۶٪) و کمترین آن مربوط به ناحیه پا (۱۰/۴٪) می‌باشد.



نمودار ۲. میزان فراوانی لیشمانیوز پوستی نوع شهری در بخش دهبکری، شهرستان بهم، استان کرمان، برحسب محل ضایعه، ۱۳۸۷

از کل نمونه‌های مورد بررسی لیشمانیوز پوستی ۷۸٪ تک زخم و بقیه بیش از یک زخم داشتند. توزیع فراوانی



شکل ۱. تصویر نتیجه PCR ژل آگارز نمونه‌های لیشمانیا در شهر و حومه دهبکری

تصویر ژل بالا شامل الگوی مربوط به باندهای حاصل از انجام روش PCR با تعداد ایزوله‌های لیشمانیوز جلدی همراه با نمونه‌های استاندارد را نشان می‌دهد. سوش استاندارد لیشمانیا ماژور (جایگاه شماره ۳) در ناحیه ۶۲۰ bp و ستون‌های ۱، ۲ و ۴ مربوط به ایزوله‌های تعیین هویت شده دهبکری است که قطعه‌ای در حدود ۸۰۰ bp نشان می‌دهد که مطابقت با گونه لیشمانیا تروپیکا دارد.

## بحث

کشور، وجود بیماری‌های بدون علامت، ظهور رفتارهای متفاوت انگل در میزبان‌ها، همگی سبب تغییر و دگرگونی در سیمای اپیدمیولوژیکی و بالینی بیماری لیشمانیوز جلدی در ایران گردیده است (۲،۴،۵).

جمعاً شیوع سالک در منطقه مورد بررسی ۳/۵٪ (۲۰۴ نفر) و بیشترین میزان آلودگی مربوط به جنس مؤنث بود (۳/۶٪) که هیچ‌گونه اختلاف آماری معنی‌داری در مقایسه با جنس مذکر (۳/۴٪) مشاهده نشد.

اگرچه در این بررسی شاخص‌های اپیدمیولوژیکی و عوامل خطر به‌طور نسبی برای جنس مؤنث و مذکر یکسان بود ولی این یافته‌ها نشان داد که سالک در جنس مؤنث شیوع بیشتری دارد که احتمالاً افراد مؤنث در تماس بیشتری با منابع آلوده قرار گرفته و در نتیجه بیشتر آلوده می‌شوند. در بررسی‌های قبلی از شهرستان بم (۶) بیشترین

شیوع لیشمانیوز جلدی در سال‌های اخیر در اغلب استان‌های کشورمان سیر صعودی به خود گرفته و کانون‌های اندمیک و اپیدمیک آن از مناطق مختلف در حال خودنمایی است (۵-۹). به دلیل تنوع در اشکال لیشمانیوز جلدی در نقاط مختلف ایران، تفکیک گونه‌ها و سویه‌های مختلف این انگل بسیار دشوار می‌باشد. در گذشته بیشتر مطالعات صورت گرفته برای تشخیص بیماری بر اساس شواهد بالینی و اپیدمیولوژیکی بیماری استوار بود ولی امروزه گسترش جغرافیایی بیماری، تغییر الگوی مسافرت‌ها، مهاجرت جمعیت، توسعه اماکن مسکونی، مهاجرت روستائیان به سوی شهرها، حضور افراد حاشیه‌نشین در اطراف شهرهای بزرگ، تغییرات اقلیمی، هجوم پناهندگان و آوارگان ناشی از جنگ به سمت

غیربومی بودن معنی دار شد ( $P < 0/001$ ). این منطقه هم‌جوار با شهر بم بوده و در زمان زلزله رفت‌وآمدهای زیادی به این منطقه صورت گرفته است. در پی علل تثبیت بیماری طبق بررسی‌های به‌عمل آمده از اهالی منطقه، مشاهده شد که از خاک‌های آوار زلزله بم برای حاصل‌خیزی محصولات کشاورزی در این منطقه استفاده شده است و احتمال می‌رود که همراه خاک آوارها، تخم و لارو پشه خاکی، ناقل این بیماری به این منطقه آورده شده باشد. هم‌چنین به‌نظر می‌رسد در سال‌های اخیر به‌علت ارتباط بیشتر تردهای زیادتری بین این مناطق صورت گرفته است و از طرفی شهر بم از مناطق با شیوع بالا بوده (۶) و در نتیجه اثر زیادی در تثبیت و شیوع سالک در این منطقه داشته‌است.

فراوانی نسبی زخم فعال در بررسی حاضر ۱/۸٪ بود. در مطالعات دیگران از شهر بم میزان شیوع زخم فعال ۱/۳٪ و ۲٪ گزارش گردیده است (۶،۱۱). در بررسی روند بیماری اغلب موارد مربوط به بعد از زلزله بم به‌ویژه از سال ۱۳۸۵ به بعد هستند و دلیل آن هم تردد بیشتر افراد از مناطق اندمیک شهرستان بم به‌خصوص شهر بم به بخش دهبکری بوده که یک منطقه بیلاقی خوش آب و هوا است. به‌علت استفاده بیشتر از این منطقه و استفاده از خاک آوار برای حاصل‌خیزی باغات، باغچه‌ها و احتمالاً مزارع و سبزیجات به‌تدریج تخم و لارو پشه خاکی به این منطقه آورده شده و مقدمات برقراری سیر تکاملی انگل فراهم شده است، به طوری که امروزه به‌علت برقراری چرخه زندگی انگل و انتقال محلی افراد مقیم بیشتر دچار آلودگی شده‌اند.

اصولاً از آزمایشات مستقیم (مورفولوژی) و کشت ارگانسم جهت تعیین دقیق گونه انگل نمی‌توان استفاده کرد. در حالی که با توجه به پیشرفت‌هایی که در سال‌های اخیر صورت گرفته با استفاده از روش‌های مولکولی مانند PCR و تمایز DNA انگل امکان تعیین گونه انگل فراهم شده‌است. تشخیص مولکولی بر اساس مارکرهای ژنتیکی

آلودگی مربوط به جنس مؤنث بود (مهدآب، نهصد متری، فخرآباد) ولی در مطالعه دیگری تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای بین جنسیت در مناطق دیده نشده است (۱۱).

از لحاظ فراوانی افراد مبتلا به سالک در شهر و حومه دهبکری به تفکیک گروه‌های سنی، در بررسی حاضر بیشترین فراوانی در گروه سنی  $\leq 10$  سال (۹/۳٪) و کمترین آن مربوط به گروه سنی ۲۱-۳۰ سال (۲/۹٪) بود. هم‌چنین بیش از ۵۰٪ نمونه‌های مثبت مربوط به گروه سنی زیر ۳۰ سال بود. اما در مقایسه با بررسی‌های دیگر میزان شیوع تقریباً یکسان نبود. در بررسی ندیم و همکاران بیشترین گروه سنی درگیر ۱۸-۱۲ سال بود (۶) و هم‌چنین در بررسی شریفی و همکاران (۱۱) در قالب 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 گرفته‌اند.

از نظر فراوانی زخم فعال بر حسب محل ضایعه در مجموع بیشترین موارد زخم مربوط به ناحیه صورت (۴۷٪) و کمترین محل ابتلا مربوط به پا (۹٪) بود. ابتلای صورت یکی از ویژگی‌های مهم سالک نوع شهری است که در این مطالعه گونه عامل بیماری لیشمانیا تروپیکا، مشخص گردید. در مقایسه فراوانی زخم فعال در افراد مبتلا به سالک بر حسب تعداد ضایعه ۷۸٪ تک‌زخم بودند و فقط ۲۲٪ نمونه‌ها بیش از یک زخم داشتند. این یافته‌ها با نتایج مطالعات محققین دیگر در شهرستان بم هم‌خوانی دارد، به طوری که افلاطونیان و همکاران ۸۲/۵٪ و شریفی و همکاران ۸۲/۳٪ تک‌زخم گزارش نموده‌اند (۶،۱۱). وجود اغلب ضایعات پوستی در صورت یکی دیگر از شواهد خارجی (Extrinsic factors) مبنی بر وجود لیشمانیوز پوستی نوع شهری در این منطقه می‌باشد. آلودگی سالک در افراد بومی (۴/۱٪) بیشتر از افراد غیربومی (۱/۱٪) مشاهده شد. توزیع فراوانی زخم فعال و اسکار در افراد مبتلا به سالک بر حسب بومی و

در این محل نوپدید است و وجود عوامل اجتماعی اکولوژیک (خاک‌های آوار) در استقرار و افزایش شیوع سالک شهری در مناطق اندمیک روستایی این شهرستان نقش مهمی، ایفا می‌نماید.

بررسی مولکولی نشان داد که در این منطقه لیشمانیا تروپیکا عامل اصلی لیشمانیوز پوستی نوع شهری وجود دارد که می‌توان نسبت به کنترل، پیشگیری و درمان بیماری برنامه‌ریزی کرد و با توجه به مشکلاتی که هم‌اکنون سالک در این منطقه ایجاد کرده است می‌توان با طرح برنامه‌های بهداشتی و کنترل بیماری تا حدودی نگرانی اهالی را مرتفع کرد. نکته جالب توجه در این مطالعه تثبیت یک کانون جدیدی از لیشمانیوز پوستی نوع شهری در یک منطقه کاملاً روستایی می‌باشد.

### سپاسگزاری

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

مختص گونه، به‌خصوص مارکرهای حاصل از kDNA می‌باشد. Gangneux و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند PCR از حساسیت (۹۲٪) و ویژگی (۱۰۰٪) بالایی برخوردار است (۱۵). به دلیل حساسیت و ویژگی بالای PCR در افتراق گونه عامل سالک در بررسی حاضر از این روش استفاده گردید. در مجموع تعداد ۲۶ نمونه به محیط کشت تلقیح شد و مورد ارزیابی با روش PCR قرار گرفت. در بررسی مولکولی هر ۲۶ نمونه، گونه به‌دست آمده از پروماستیگوت‌های محیط کشت، لیشمانیا تروپیکا را نشان داد. علت اینکه فقط ۲۶ نمونه تعیین گونه شد، سخت رشد بودن پروماستیگوت‌ها در محیط کشت بود و با توجه به درمان اکثر زخم‌های فعال تعداد لازم پروماستیگوت جهت استخراج DNA به‌دست نیامد و وجود برخی از مشخصات مبتنی بر شواهد خارجی نظیر وجود ۴۷٪ ضایعات در صورت و تک‌زخم بودن آنها (۷۸٪) تأیید دیگری بر وجود گونه مذکور می‌باشد که این مسأله توسط محققین دیگر در شهرستان بم به اثبات رسیده است (۱۱، ۶).

### نتیجه‌گیری

این بررسی برای اولین بار در این منطقه بیلاقی شهرستان بم انجام شد که نشان می‌دهد که لیشمانیوز پوستی



## A New Focus of Anthroponotic Cutaneous Leishmaniasis in Dehbakry Region of Bam District, Southeastern Iran 2008

Pouresmaelian S., B.Sc.<sup>1</sup>, Sharifi I., Ph.D.<sup>2\*</sup>, Aflatoonian M.R., MPH<sup>3</sup>, Fotouhi Ardakani R., M.Sc.<sup>4</sup>, Mirzaee M., Ph.D.<sup>5</sup>, Barati M., M.Sc.<sup>6</sup>

1. Master Student of Parasitology, School of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran
2. Professor of Parasitology, Leishmaniasis Research Center & Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
3. Instructor, Leishmaniasis Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
4. Instructor, Leishmaniasis Research Center & Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
5. School of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran
6. Master in Medical Parasitology, Leishmaniasis Research Center, Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

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

(Received: 10 May 2009 Accepted: 30 Sep. 2009)

### Abstract

**Background and aims:** Cutaneous leishmaniasis (CL) is still a health problem in the world, including Iran where its cases have significantly increased in recent years. The objective of this study was to assess a new focus of anthroponotic CL in rural communities after the earthquake in Bam district.

**Method:** After the report of the provincial health authorities, this study has been carried out in the summer of 2008 in Dehbakry region, Bam district, Kerman province in southeastern Iran.

**Results:** Overall, 3884 individuals consisting of 1913 females (49.3%) and 1971 males (50.7%) were physically examined for the presence of active lesions or scars. The overall prevalence rate was 5.3%; 6.3% in females and 4.3% in males with no significant difference. Most of the infection was in age group  $\leq 10$  years (9.3%) and the lowest in 21-30 year group (2.9%). The prevalence rate was significantly ( $P < 0.001$ ) higher in native residents (4.1%) than in non-natives (1.1%). Most of the lesions were on the face (47%), and hands (34%). The majority (78%) had one lesion. Most of the cases had occurred during 2006. PCR technique revealed all 26 examined cases as *Leishmania tropica*.

**Conclusion:** All the cases have occurred after the earthquake and simultaneously with epidemic condition in the city of Bam. Traveling from endemic areas of Bam to this locality could be the main factor for establishment of this new ACL focus.

**Keywords:** Cutaneous leishmaniasis, Epidemiology, Bam

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2010; 17(1): 15-24

## References

- Desjeux P. Leishmaniasis: Current situation and new perspectives. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2004; 27(5): 305-18
- Desjeux P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 2001; 95(3): 239-43
- Moemenbellah-Fard M.D, 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.
- Ardehali S, Rezaei H, Nadim A. *Leishmania* parasite and leishmaniasis. 2<sup>nd</sup> ed., Tehran university publication, 1994; pp1-20 [Persian].
- Center for Management of Diseases, Office of Zoonotic Disease Control, Ministry of Health and Medical Education. Management of cutaneous leishmaniasis program for Bam. 2008; pp1-56 [Persian].
- Nadim A, Aflatoonian M.R. Anthroponotic cutaneous leishmaniasis in the city of Bam, southeast Iran. *Iranian J Publ Health* 1995; 24(1-2): 15-24 [Persian].
- Sharifi I, Zemani F, Aflatoonian MR, Fekri AR. A report of cutaneous leishmaniasis epidemic and its probable causative factors in Baft district, Kerman province. *Iranian Journal of Epidemiology* 2008; 4(1): 53-8 [Persian].
- Yaghoobi-Ershadi M.R., Hanafi-Bojd A.A., Akhavan A.A., Zahrai-Ramazani A.R., Mohebbali M. Epidemiological study in a new focus of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania major* in Ardestan town central Iran. *Acta Trop* 2001; 79(2): 115-21
- Yaghoobi-Ershadi M.R., Hanafi-Bojd A.A., Javadian E, Jafari R, Zahraei-Ramazani A.R., Mohebbali M. A new focus of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania tropica*. *Saudi Med J* 2002; 23(3): 291-4.
- Sharifi I, Ardehali S, Motazedian H, Aflatoonian M.R., Fekri A.R., Ahmadi Mousavi M.R. Identification and characterization of *Leishmania* isolates in school children in Bam, south- eastern Iran. *Iranian J Med Sci* 1994; 22(3,4).
- Sharifi I, Fekri A.R., Aflatoonian M.R, Nadim A, Nikian Y, Khamesipour A. Cutaneous leishmaniasis in primary school children in the eastern Iranian city of Bam 1994- 95. *Bull World Health Organ* 1998; 76(3): 289-930.
- Mahboudi F, Abolhassan M, Yaran M, Mobtaker H, Azizi M. Identification and differentiation of Iranian *Leishmania* species by PCR amplification of kDNA. *Scand J Infect Dis* 2001; 33(8): 596-8.
- Murray H.W., Berman J.D., Davies C.R., Saravia NG. Advances in leishmaniasis. *Lancet* 2005; 366(9496): 1561-77.
- Afkar A, Sharifi I, Aflatoonian M.R., Fasihi-Harandi M, Fotouhi Ardakani R, Nosratabadi S.J. Epidemiological study of cutaneous leishmaniasis in Bam and Barawat during 2005 and identification of the causative species by PCR. Presented in the 6<sup>th</sup> Congress on Parasitic Diseases in Iran, Karaj, 1999 [Persian].
- Gangneux J.P., 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.