

Original Article

Seroprevalence of visceral leishmaniasis in children living in rural areas of Ahar and Osku Counties in East Azarbaijan Province, North-west of Iran in 2018

Amirhossein Maghsood¹, Mahdi Parsaei^{*}, Afshin Azimi¹, Mehdi Mohebal², Behnaz Akhoundi²,
Nazila Sarafraz³, Mahdi Hasanzadeh⁴, Saber Alizadeh⁴, Ahad Shahnam⁴

¹Department of Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

²Department of Parasitology and Mycology, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³Department of Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

⁴Vice Chancellor for Health, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

*Corresponding author; E-mail: mahdiparsaei.mp@gmail.com

Received: 11 May 2019 Accepted: 14 Jul 2019 First Published online: 17 April 2021

Med J Tabriz Uni Med Sciences. 2021;43(1):61-68

Abstract

Background: Visceral leishmaniasis (VL) or Kala-azar is an endemic disease in some areas of Iran, including East Azarbaijan, Ardabil, Fars and Bushehr provinces. The disease is sporadic in other parts of the country. According to the reports of numerous cases of the disease from Ahar and Osku counties (cities), East Azarbaijan province and the lack of new study on the prevalence of the disease, this study was designed to determine the seroprevalence of VL in the children of Ahar and Osku counties, in East Azarbaijan Province.

Methods: In this descriptive cross-sectional study, blood samples were collected in the test tube without anticoagulants, from children under 8 years from rural areas of Ahar and Osku, in 2018. The samples were evaluated using Direct Agglutination Test (DAT) to measure anti *Leishmania infantum* antibodies for titer up to 1:3200.

Results: Out of 209 children <8 years in selected centers in Ahar and Osku, two cases (0.95%) revealed anti-*Leishmania* antibodies titer 1:3200. Initially, one of the two positive individuals in the study had a suspicious antibody titer of 1:1600, whose antibody titer increased to 1:3200 after 4 weeks.

Conclusion: The Kala-azar, in spite of low endemicity, is one of the health problems in Ahar and Osku in East Azarbaijan Province. This study suggests the necessity of supplementary studies based on molecular approaches in the region and other parts of the province.

Keywords: *Leishmania infantum*, Seroprevalence, Direct agglutination test, Kala-azar, Iran

How to cite this article: Maghsood AH, Parsaei M, Azimi A, Mohebal M, Akhoundi B, Sarafraz N, Hasanzadeh M, Alizadeh S, Shahnam A. [Seroprevalence of visceral leishmaniasis in children living in rural areas of Ahar and Osku Counties in East Azerbaijan Province, North-west of Iran in 2018]. Med J Tabriz Uni Med Sciences. 2021;43(1):61-68. Persian.

مقاله پژوهشی

شیوع سرمی لیشمانیوز احشایی در کودکان ساکن مناطق روستایی شهرستان‌های اهر و اسکو استان آذربایجان شرقی در سال ۱۳۹۷

امیرحسین مقصود^۱، مهدی پارسایی*^۱، افشین عظیمی^۱، مهدی محبعلی^۲، بهناز آخوندی^۲، نازیلا سرفراز^۳، مهدی حسن زاده^۴، صابر علیزاده^۴، احد شهنامی^۴

^۱ گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
^۲ گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
^۳ گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران
^۴ معاونت بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
*نویسنده مسئول؛ ایمیل: mahdiparsaei.mp@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۸/۲/۲۱ پذیرش: ۱۳۹۸/۴/۲۳ انتشار برخط: ۱۴۰۰/۱/۲۸
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۰؛ ۴۳(۱): ۶۱-۶۸

چکیده

زمینه: لیشمانیوز احشایی یا کالآزار در برخی مناطق ایران مانند استان‌های آذربایجان شرقی، اردبیل، فارس و بوشهر به صورت بومی دیده می‌شود. این بیماری در سایر مناطق کشور به شکل پراکنده و تک‌گیر (اسپورادیک) گزارش شده است. با توجه به گزارش مواردی از بیماری کالآزار از شهرستان‌های اهر و اسکو استان آذربایجان شرقی در سال‌های اخیر و نبود مطالعه جدید در مورد میزان شیوع آن، این بررسی با هدف تعیین وضعیت شیوع سرمی لیشمانیوز احشایی در کودکان شهرستان‌های اهر و اسکو استان آذربایجان شرقی انجام شد.

روش کار: در این مطالعه توصیفی مقطعی، نمونه خون از کودکان زیر ۸ سال مناطق روستایی شهرستان‌های اهر و اسکو در سال ۱۳۹۷ در لوله آزمایش بدون ماده ضدانعقاد جمع‌آوری شد. نمونه‌ها با روش سرولوژی آگلوتیناسیون مستقیم (DAT) برای اندازه‌گیری آنتی‌بادی ضد انگل *لیشمانیا اینفانتوم* ارزیابی شدند.

یافته‌ها: از ۲۰۹ نفر کودک زیر ۸ سال نمونه‌گیری شده، میزان شیوع سرمی بیماری لیشمانیوز احشایی در مراکز نمونه‌گیری شده از شهرستان‌های اهر و اسکو با تیتراژ آنتی‌بادی ۱:۳۲۰۰، ۰/۹۵٪ تعیین شد. یکی از دو فرد مثبت این مطالعه در ابتدا تیتراژ آنتی‌بادی مشکوک ۱:۱۶۰۰ داشت که ۴ هفته بعد نمونه‌گیری اولیه، تیتراژ آنتی‌بادی ۱:۳۲۰۰ شد.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج، بیماری کالآزار با وجود شیوع بومی پایین، یکی از مشکلات بهداشتی شهرستان‌های اهر و اسکو استان آذربایجان شرقی است. مطالعات تکمیلی بر پایه روش‌های مولکولی در منطقه و سایر مراکز استان آذربایجان شرقی لازم است.

کلید واژه‌ها: لیشمانیا/ینفانتوم، شیوع سرمی، آگلوتیناسیون مستقیم، کالآزار، انسان، ایران

نحوه استناد به این مقاله: مقصود ا ح، پارسایی م، عظیمی ا، محبعلی م، آخوندی ب، سرفراز ن، حسن زاده م، علیزاده ص، شهنامی ا. شیوع سرمی لیشمانیوز احشایی در کودکان ساکن مناطق روستایی شهرستان‌های اهر و اسکو استان آذربایجان شرقی در سال ۱۳۹۷. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۰؛ ۴۳(۱): ۶۱-۶۸

حق تالیف برای مولف محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کپی‌رایت کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) منتشر گردیده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

لیشمائیوز احشایی (کالاآزار) از بیماری‌های انگلی است که اهمیت بهداشتی فراوانی دارد. در سال‌های اخیر توجه به لیشمائیوز به عنوان یک مشکل بهداشت عمومی افزایش یافته است. اما بروز بیماری در مناطق بومی و یا مسافران بازگشته از این مناطق نشان می‌دهد فعالیت‌های انجام شده برای کنترل بیماری کافی نیستند. به دلیل تنوع زیاد انواع بالینی بیماری در مناطق مختلف جغرافیایی، مناطق بومی بیماری به روش‌ها و فرآیندهای کنترلی خاص خود نیاز دارد (۱،۲). لیشمائیوز از بیماری‌های بومی ایران و بیش از ۸۰ کشور جهان است (۲). کالاآزار ایران از نوع مدیترانه‌ای، عامل آن انگل لیشمائیا / *یفئاتوم*، ناقل آن گونه‌هایی از پشه‌خاکی از جنس *فلبوتوموس* و مخزن انگل، سگ و سگ‌سانان وحشی است (۳،۴). این بیماری در ایران در برخی مناطق استان‌های اردبیل (۵،۶)، آذربایجان شرقی (۶)، فارس (۷) و بوشهر (۸) به شکل بومی و در سایر مناطق به صورت تک‌گیر (اسپورادیک) گزارش شده است (۵). در استان اردبیل شهرستان‌های مشگین‌شهر و گرمی بیشترین موارد ابتلا به لیشمائیوز احشایی را دارند و بیماری بیشتر در کودکان ۵ ساله و کمتر از آن دیده می‌شود (۹). لیشمائیوز احشایی با اسپیراسیون نمونه مغز استخوان، روش‌های سرولوژیک مختلف مانند *ELISA*، *DAT*، *JFA*، *LAT*، *ELISA*، *LAT* و *Dipstick rK39* تست‌های تشخیصی سریع مانند *Dipstick rK39* و روش‌های مولکولی تشخیص داده می‌شود (۱۰،۱۱). به دلیل راحتی و آسیب کمتر به بیماران، روش‌های سرولوژیک برای تشخیص لیشمائیوز احشایی بیشتر مورد توجه است. بین روش‌های سرولوژیکی، روش *DAT* (آگلوتیناسیون مستقیم) براساس مطالعات، راحتی بیشتر (بدون نیاز به تجهیزات آزمایشگاهی پیچیده در آزمایشگاه‌های محیطی) و حساسیت تشخیص بیماری تا ۹۵٪ دارد و در اکثر آزمایشگاه‌های محیطی مناطق بومی بیماری، یک ابزار تشخیصی برای شناسایی بیماران مبتلا به لیشمائیوز احشایی است (۱۲). بیماری در مناطق بومی بیشتر در کودکان ۵ ساله و کمتر از آن دیده می‌شود (۱۳) که علائمی مانند تب، بزرگی طحال، بزرگی کبد و کاهش تمام رده‌های سلول‌های خونی دارند و در صورت عدم درمان، موجب مرگ بیمار می‌شود (۱۴). محبعلی و همکاران (۱۵) طی سال‌های ۲۰۰۲ تا ۲۰۱۲ در مطالعه‌ای به روش *DAT* میزان شیوع سرمی لیشمائیوز احشایی در شمال‌غرب ایران را ۲/۹٪ گزارش کردند. با توجه به گزارش موارد متعدد بیماری کالاآزار از شهرستان‌های اهر و اسکو استان آذربایجان شرقی و نبود مطالعه جدید در مورد میزان شیوع آن، این مطالعه برای بررسی شیوع سرمی لیشمائیوز احشایی به روش *DAT* (آگلوتیناسیون مستقیم) در کودکان مناطقی از استان آذربایجان شرقی، انجام شد.

روش کار

این مطالعه مقطعی در سال ۱۳۹۷ با جامعه آماری کودکان زیر ۸ سال در چهار روستا شهرستان‌های اهر، اطراف شهر اسکو و دو روستا شهرستان اسکو استان آذربایجان شرقی شامل روستاهای مرادلو، کورن، حوری درق و بهل شهرستان اهر و شهرک امام خمینی (ره) شهر اسکو و روستاهای اسفنجان و فسقندیس شهر اسکو انجام شد.

نکات کاربردی

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد، مخازن انگل (سگ و سگ‌سانان) در شهرستان‌های تحت مطالعه وجود داشته و امکان آلودگی موارد انسانی در شهرستان‌های اهر و اسکو و یا در افراد با سابقه مسافرت به این مناطق وجود دارد. مطابق با نتیجه بدست آمده در این مطالعه احتمال اینکه افراد با تیتراژ ۱:۱۶۰۰ مبتلا به بیماری حاد شوند وجود دارد. لذا نیازمند پیگیری و انجام آزمایش مجدد با تست *DAT* می‌باشند.

جمعیت کل افراد زیر ۸ سال براساس آمار خانه بهداشت مراکز مطالعه شده، ۱۲۴۱ نفر است. حجم نمونه با فرمول کوکران با میزان خطا ۰/۰۵٪، ۲۹۳ نفر محاسبه شد.

$$p=q=0/5$$

$$d=0/05$$

N= حجم جامعه آماری

$$z=1/96$$

$$n = \frac{nzpq}{Nd^2 + z^2pq}$$

نمونه‌گیری بصورت تصادفی ساده و با مشارکت بهورزان خانه‌های بهداشت مراکز و براساس لیست خانوار خانه بهداشت انجام شد. با وجود ۲۹۳ نفر حجم نمونه تعیین شده، ۲۰۹ کودک زیر ۸ سال داوطلبانه برای نمونه‌گیری و تهیه سرم به خانه بهداشت مراکز مراجعه کردند. تمام نمونه‌های گرفته شده به روش *DAT* (آگلوتیناسیون مستقیم) در آزمایشگاه مرجع کشوری لیشمائیا در واحد تک‌یاخته‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران همراه سرم‌کنترل‌های مثبت و منفی آن مرکز بررسی شدند. پس از کسب رضایت آگاهانه کتبی از یکی از والدین کودکان، پرسشنامه از قبل طراحی شده شامل اطلاعات دموگرافیک، وجود علائم بالینی مرتبط با کالاآزار، نگهداری سگ در منزل و سابقه مسافرت به مناطق بومی بیماری مانند اردبیل، فارس و بوشهر برای هر فرد تکمیل شد. سپس از هر فرد، ۲ میلی‌لیتر خون وریدی با سرنگ گرفته و در لوله آزمایش ۱۲×۱۰۰ میلی‌متری (به آرامی و از کنار لوله برای جلوگیری از همولیز احتمالی نمونه خون) کامل تخلیه شد. تمام نمونه‌ها با جعبه حمل واکسن همراه کیسه یخ برای جداسازی سرم به آزمایشگاه جامع سلامت معاونت بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تبریز، بخش لیشمائیا منتقل شد. در مجموع از ۲۰۹ نفر نمونه‌گیری شد. تمام نمونه‌ها با ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم آنها برای انجام آزمایش سرولوژی به فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. پس از جمع‌آوری، تمام نمونه‌ها جهت آزمایش *DAT* (آگلوتیناسیون مستقیم) با حفظ زنجیره سرما (جعبه حمل واکسن همراه کیسه یخ) به دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، آزمایشگاه مرجع کشوری لیشمائیا منتقل شد. آنتی‌ژن تست آگلوتیناسیون مستقیم توسط آزمایشگاه مرجع کشوری لیشمائیا تهیه شده است. سرم افراد مطالعه پس از رسیدن به دمای آزمایشگاه به

آنتی‌بادی لیشماتیا، منفی است. اگر بصورت کلونیدی ابری شکل آبی رنگ یکنواخت در تمام مخلوط داخل چاهک پراکنده شود یا آگلوتینه شوند، نتیجه از نظر وجود آنتی‌بادی لیشماتیا مثبت خواهد بود. بالاترین رقت از نمونه سرمی که آگلوتیناسیون در آن چاهک ایجاد شده بود، به عنوان حداکثر تیترا مثبت تست آگلوتیناسیون مستقیم در نظر گرفته شد. تیترا ۱:۳۲۰۰ و بالاتر از آن، تیترا مثبت، تیترا ۱:۱۶۰۰ تیترا مشکوک (۲ تا ۳ هفته بعد تکرار نمونه‌گیری و آزمایش) و تیترا پایین‌تر از ۱:۸۰۰، منفی در نظر گرفته شد. نتایج با نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ بررسی آماری شد و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ بود.

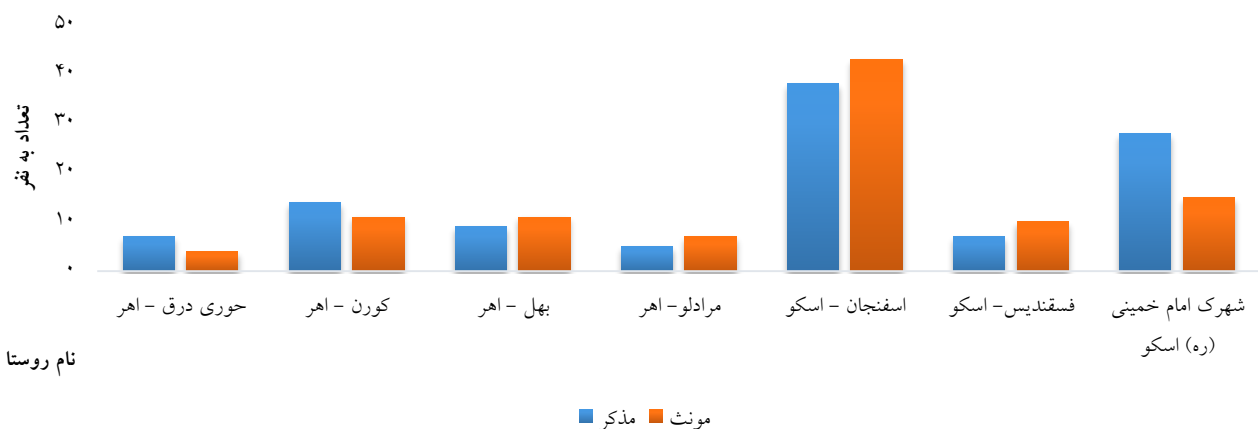
یافته‌ها

از ۲۰۹ کودک شرکت‌کننده در این تحقیق، ۱۰۸ (۵۱/۶٪) نفر مذکر و ۱۰۱ (۴۸/۴٪) نفر مونث بودند. نمودار ۱ (الف) توزیع فراوانی کودکان مطالعه را براساس جنسیت به تفکیک هر مرکز نشان می‌دهد. از کل افراد، ۷ نفر (۳/۴٪) کمتر از ۱ سال، ۲۹ نفر (۱۳/۸٪) ۱ تا ۲ سال، ۱۰۳ نفر (۴۹/۳٪) ۳ تا ۴ سال، ۶۸ نفر (۳۲/۶٪) ۵ تا ۶ سال و ۲ نفر (۰/۹٪) ۷ تا ۸ سال سن داشتند (نمودار ۱ ب). در جدول ۱ توزیع فراوانی جمعیت مطالعه براساس پاسخ سرولوژی به تفکیک مراکز نشان داده شده است. حداقل سن افراد ۲ ماه و حداکثر ۸ سال تمام بود.

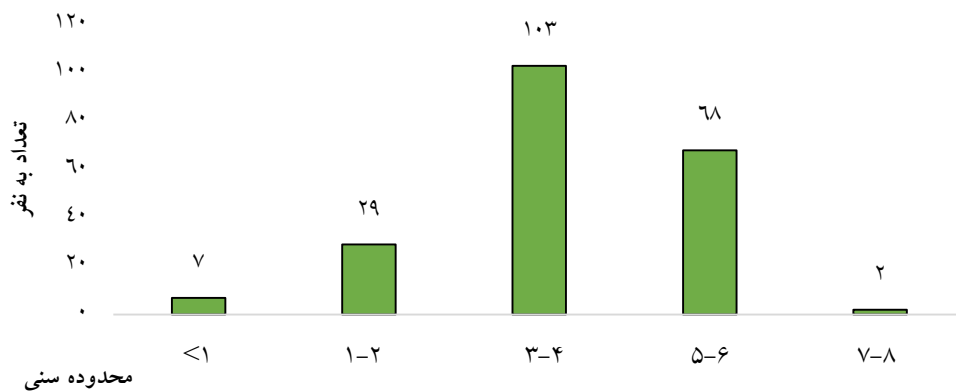
آرامی مخلوط شد. از پلیت‌های وی شکل ساخت کشور اتریش، شرکت گرینر استفاده شد. ابتدا در چاهک‌های ۱ و ۲، ۹۰ میکرولیتر و در چاهک‌های ۳ تا ۸، ۵۰ میکرولیتر از محلول رقیق‌کننده - که در آزمایشگاه مرجع لیشماتیا تهیه شده بود - توسط سمپلر کالیبره تنظیم شده ریخته شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از سرم هر فرد در چاهک اول ریخته و مخلوط شد (رقت نهایی در چاهک اول ۱:۱۰). سپس از چاهک اول ۱۰ میکرولیتر به چاهک دوم اضافه و مخلوط شد (رقت ۱:۱۰۰). ۵۰ میکرولیتر از چاهک دوم به سوم اضافه شد و پس از مخلوط کردن به همان ترتیب تا آخر ادامه یافت. در چاهک هشتم بعد از مخلوط کردن، ۵۰ میکرولیتر دور ریخته شد. به هر کدام از رقت‌های تهیه شده ۵۰ میکرولیتر آنتی‌ژن اضافه و سپس به مدت یک دقیقه پلیت‌ها روی میز تکان داده شد تا نمونه‌های سرم با آنتی‌ژن به‌خوبی مخلوط شود. سپس پلیت‌ها روی یک سطح افقی در دمای آزمایشگاه (حدود ۲۲ درجه سانتی‌گراد) تا روز بعد (۱۸ ساعت) در اتاقک مرطوب (برای جلوگیری از بخار شدن نمونه‌ها و آنتی‌ژن) قرار داده شد. بعد از گذشت زمان لازم، پلیت‌ها روی یک صفحه سفید قرار داده شدند و از بالا (بصورت عمود) چاهک‌ها از نظر وجود آگلوتیناسیون بررسی شدند. اگر آنتی‌ژن همراه سرم بصورت یک تکه کوچک آبی رنگ با حاشیه کاملاً مشخص در وسط چاهک ته‌نشین شود، آگلوتیناسیون صورت نگرفته و نتیجه از نظر وجود

جدول ۱: توزیع فراوانی کودکان مطالعه براساس پاسخ آزمون آگلوتیناسیون مستقیم به تفکیک مرکز / روستا شهرستان های اهر و اسکو

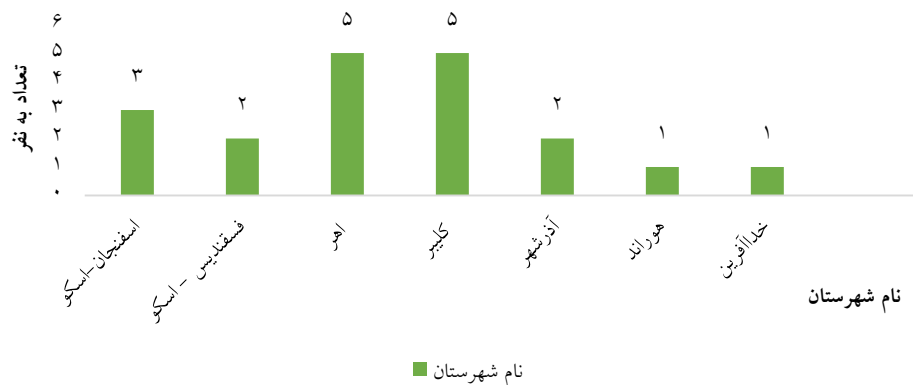
نام شهرستان	نام مرکز/روستا	موارد منفی			تعداد کل
		تیترا $\geq 1:800$	تیترا $1:1600$	موارد مشکوک	
اهر	حوری درق	۱۱	۰	۰	۱۱
	کورن	۲۴	۰	۱	۲۵
	بهل	۲۰	۰	۰	۲۰
	مرادلو	۱۲	۰	۰	۱۲
اسکو	اسفنجان	۸۱	۰	۰	۸۱
	فسقندیس	۱۶	۱	۰	۱۷
	شهرک امام خمینی	۴۳	۰	۰	۴۳
جمع کل		۲۰۷	۱	۱	۲۰۹



نمودار ۱ (الف): توزیع فراوانی کودکان مطالعه براساس جنسیت به تفکیک هر مرکز / روستا



نمودار ۱ (ب): توزیع فراوانی کودکان مطالعه براساس گروه سنی (سال)



نمودار ۲: تعداد موارد مثبت ثبت شده طی سال ۱۳۹۷ توسط مرکز مدیریت بیماری‌های واگیر معاونت بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تبریز

جدول ۲: اطلاعات دموگرافیک افراد شرکت کننده در مطالعه

اسکو		اهر					نام شهرستان	
اسفنجان		فسقندیس	مرادلو	بهل	کورن	حوری درق	نام مرکز/روستا	
شهرک امام خمینی	اسفنجان	فسقندیس	مرادلو	بهل	کورن	حوری درق	سوالات مربوط به پرسشنامه	
۱۱/۶	۱۳/۵	۲۳/۵	۱۶/۶	۲۰	۲۴	۲۷/۲	درصد افراد دارای اطلاعات اولیه در مورد بیماری کالاآزار	
۶/۹	۴/۹	۱۱/۷	۰	۵	۸	۲۷/۳	درصد افراد دارای تب	
۰	۳/۷	۵/۸	۸/۳	۵	۸	۳۶/۳	درصد افراد دارای طحال قابل لمس	
۲/۳	۱/۲	۱۱/۷	۰	۰	۴	۹/۱	درصد افراد دارای کاهش وزن	
۰	۶۲/۹	۵۲/۹	۵۸/۳	۸۰	۶۸	۸۱/۸	درصد افراد دارای سابقه نگهداری سگ در منزل	
۴/۶	۲/۴	۰	۰	۰	۰	۰	درصد افراد دارای سابقه مسافرت به استان‌های اردبیل، فارس و بوشهر	

سابقه نگهداری سگ در منزل بود. هر دو مورد مثبت، سابقه مسافرت به سایر مناطق بومی بیماری نداشتند. باقی نمونه‌ها تیترا آنتی‌بادی ۱:۸۰۰ و پایین‌تر داشتند و از نظر آنتی‌بادی لیشمانیا منفی بودند. نمونه مشکوک با هماهنگی و اطلاع مرکز مدیریت بیماری‌های واگیر معاونت بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تبریز، بعد از ۴ هفته از انجام آزمایش اولیه، نمونه‌گیری ویریدی مجدد شده و در

پس از انجام آزمایش آگلوتیناسیون مستقیم، یک کودک دختر ۵ ساله تیترا آنتی‌بادی ۱:۳۲۰۰ (مثبت) ساکن روستای کورن شهرستان اهر، بدون علائم تب و کاهش وزن، اما با سابقه نگهداری سگ در منزل شناسایی شد. همچنین یک کودک پسر ۴ ساله ساکن روستای فسقندیس شهرستان اسکو تیترا آنتی‌بادی ۱:۱۶۰۰ (مشکوک) و علائم تب و کاهش وزن داشت، اما بدون

تشخیص زودرس بیماری در جمعیت انسانی به دلیل امکان بروز علائم لیشمانيوز احشایی در کودکان و قبل از پیشرفت بیماری اهمیت دارد و غربالگری با تست DAT به دلیل هزینه کم و عدم نیاز به تجهیزات پیچیده آزمایشگاهی می‌تواند روش خوبی برای غربالگری و شناسایی افراد آلوده در مناطق بومی بیماری باشد (۱۹). با توجه به اهمیت لیشمانيوز احشایی در نظام مراقبت بیماری‌های واگیر وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی و معاونت‌های بهداشت دانشگاه‌های علوم پزشکی مناطق درگیر بیماری، تکرار و انجام غربالگری به روش DAT در یافتن و کنترل افراد آلوده به انگل قبل از بروز علائم بالینی بسیار اهمیت داشته و عدم تشخیص به موقع بیماری، هزینه‌های اضافی تشخیصی و درمانی افراد آلوده را تحمیل می‌کند. روش DAT به‌عنوان یک روش تشخیصی و غربالگری توسط پزشکان درمان‌کننده بیماری لیشمانيوز احشایی در بیمارستان‌های کودکان تبریز و اردبیل استفاده می‌شود. شناسایی افراد آلوده فاقد علائم بالینی - که ممکن است مخزن بیماری باشند - از مزایای دیگر غربالگری و تعیین شیوع بیماری لیشمانيوز احشایی است. این موضوع، یک چالش جدید در کانون‌های بومی بیماری در سال‌های اخیر مطرح شده است و همراه مخازن وحشی بیماری می‌تواند کنترل بیماری در کانون‌های بومی را پیچیده‌تر کند (۲۰). طبق مطالعات قبلی، شیوع سرمی لیشمانيوز احشایی در قم (دهاقان) ۲٪ (۲۱)، در خراسان (رضوی و شمالی) ۲/۵٪ (۲۲)، در مناطق مختلف اردبیل از ۲/۸ تا ۵/۱٪ (۵،۶)، در فارس (ممنسی) ۱/۹٪ (۵)، بوشهر ۳/۴٪ (۸) و در آذربایجان شرقی ۷/۹٪ (۵) گزارش شده است. طبق مطالعات سال‌های گذشته در مناطق بومی کالاآزار در کشور و استان آذربایجان شرقی موارد مثبت آزمایش سرمی آنتی‌بادی ضد لیشمانيوز به روش‌های آگلوتیناسیون مستقیم و الایزا بیشتر در بچه‌های ۵ سال و کمتر از آن مشاهده شده است (۶). براساس یک مطالعه مروری، ویژگی‌های بالینی لیشمانيوز احشایی در مناطق بومی ایران بررسی شد و علائم بالینی در ۷۵٪ از موارد با تست مثبت DAT همراه بود (۲۳). همچنین احتمال بیماری در افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی مانند HIV که در مناطق بومی ایران زندگی می‌کنند، بیشتر از جمعیت عمومی است (۲۴). طبق مطالعه محامی و همکاران (۱۹) تست DAT یک روش ساده، ارزان، بدون نیاز به تجهیزات پیچیده و قابل اجرا در مناطق بومی برای تشخیص لیشمانيوز احشایی و مطالعه شیوع سرمی بیماری است و می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های پرهزینه IFA و الایزا باشد. روش‌های مولکولی در سال‌های اخیر پیشرفت فراوانی داشته‌اند و نقش و جایگاه آنها در اپیدمیولوژی لیشمانيوز احشایی به‌ویژه تعیین گونه و سویه‌های انگل لیشمانيوز، تعیین مخازن حیوانی بیماری و برقراری ارتباط بین آنها، اهمیت فراوانی دارد، بنابراین می‌توان با

آزمایشگاه جامع سلامت، بخش لیشمانيوز، بررسی شد و در آزمایش دوم، تیتراژ آنتی‌بادی ۱:۳۲۰۰ به روش آگلوتیناسیون مستقیم داشت. هر دو مورد مثبت پس از اطلاع به مرکز مدیریت بیماری‌های واگیر معاونت بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تبریز، با توجه به وجود تب در کودک ساکن روستای فسقندیس شهرستان اسکو برای بررسی تکمیلی و اقدامات لازم به متخصص کودکان ارجاع شدند. ۶ ماه پس از پیگیری، کودک ساکن روستای فسقندیس شهرستان اسکو بعد از درمان استاندارد با داروی گلوکانتیم، تیتراژ آنتی‌بادی ۱:۸۰۰ داشت که درمان موفقیت‌آمیز بیماری را نشان می‌دهد. کودک ساکن روستای کورن شهرستان اهر در بررسی مجدد پس از ۶ ماه، تیتراژ آنتی‌بادی ۱:۱۶۰۰ داشت اما همچنان فاقد علائم بالینی لیشمانيوز احشایی در بررسی متخصص عفونی بود. در بررسی با روش آماری کای مجذور و آزمون دقیق فیشر بین دو جنس از نظر وجود آنتی‌بادی ضد لیشمانيوز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

بحث

بیماری لیشمانيوز احشایی در مناطقی از استان آذربایجان شرقی بومی است و شهرستان‌های اهر و کلیبر این استان کانون قدیمی بیماری هستند (۱۶) و مواردی از بیماری در شهرستان اسکو توسط معاونت بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تبریز ثبت شده است. در جدول ۲ اطلاعات دموگرافیک افراد شرکت‌کننده در مطالعه که توسط پرسشنامه از یکی از والدین کودکان جمع‌آوری شده، نشان داده شده است. بیماری لیشمانيوز احشایی از بیماری‌های نظام مراقبت بهداشتی کشور است و معاونت‌های بهداشت دانشگاه‌های علوم پزشکی مناطق بومی موارد مثبت را پایش و ثبت می‌کنند. در نمودار شماره ۲ تعداد موارد مثبت ثبت شده طی سال ۱۳۹۷ توسط مرکز مدیریت بیماری‌های واگیر معاونت بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تبریز نشان داده شده است. تعیین شیوع بیماری در کانون‌های بومی استان آذربایجان شرقی (۱۵)، اجرای اقدامات تشخیصی، بیماری‌یابی، درمان و آموزش ساکنان مناطق بومی توسط سیستم بهداشتی مانند استفاده از پشه بند، پوشاندن بدن کودکان و نصب توری برای پنجره‌های اماکن مسکونی و خدماتی جهت جلوگیری از ورود پشه خاکی، از علل کاهش موارد بیماری در سال‌های اخیر با توجه به مطالعات گذشته هستند. اما بیماری همچنان در مناطق بومی وجود دارد و وجود مخازن وحشی انگل مانند گرگ، شغال و روباه از دلایل عدم حذف کامل بیماری است. همچنین سگ‌های فاقد علائم بالینی بیماری، مخزن بالقوه بیماری هستند (۱۷). در سال‌های اخیر گربه نیز مخزن لیشمانيوز احشایی مطرح شده است که می‌تواند موجب گسترش بیشتر بیماری در کانون‌های بومی بیماری شود (۱۸).

اسرافیل آقازاده، مهندس غفار صدوق و سرکار خانم دکتر سیمین خیاط زاده تشکر و قدردانی می‌کنند.

استفاده از این روش‌ها و افزایش افراد شرکت‌کننده در پژوهش، مطالعات بعدی را به شکل کامل و جامع طراحی و اجرا کرد.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی همدان با شماره IR.UMSHA.REC.1397.532 تایید شده است و از یکی از والدین تمام مراجعین رضایت‌نامه آگاهانه کتبی گرفته شده است.

منافع متقابل

مولفان منافع متقابلی از انتشار مقاله حاضر ندارند.

منابع مالی

از این طرح تحقیقاتی توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان حمایت مالی شده است.

مشارکت مولفان

م پ در انتخاب موضوع، طراحی پروتکل و اجرا، ام در طراحی پروتکل و اجرا، اع، م م و ب در اجرا و تدوین مقاله مطالعه، ن س و م ح در اجرا، تهیه دست نوشته تحقیق و تحلیل نتایج و ص ع و اش در اجرای تحقیق نقش داشتند. همچنین کلیه نویسندگان، نسخه نهایی مقاله را خوانده و تایید کرده اند.

نتیجه گیری

طبق نتایج با استفاده از تست DAT میزان شیوع سرمی آنتی‌بادی ضد لیشمانیوز احشایی در کودکان زیر ۸ سال مناطق مطالعه شده، ۰/۹۵٪ بود و در مقایسه با مطالعات مشابه قبلی در مناطق بومی کالاآزار در استان آذربایجان شرقی کاهش یافته و با سایر مطالعات در مناطق بومی کالاآزار مانند استان اردبیل مطابقت دارد (۲۵). شناسایی افراد با تیتراژ مثبت آنتی‌بادی لیشمانیوز احشایی در مناطق مطالعه شده در استان آذربایجان شرقی نشان داد، کالاآزار یکی از بیماری‌های انگلی بومی منطقه و نیازمند توجه سیستم بهداشتی در تشخیص و درمان به موقع افراد آلوده در مناطق با شیوع بیماری و یا افراد با سابقه مسافرت به این مناطق است.

قدردانی

مولفان مقاله از همکاری معاونت بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تبریز، شبکه بهداشت و درمان شهرستان‌های اهر و اسکو، آزمایشگاه مرجع کشوری لیشمانیوز مستقر در دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، آزمایشگاه جامع سلامت معاونت بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تبریز و آقایان دکتر مصطفی فرحبخش، مهندس

References

1. Control of the leishmaniases. Report of a WHO Expert Committee. World Health Organ Tech Rep Ser. 1990;793:1-158. PMID: 2124015.
2. Godal T, Ozcel A, Alkan M. New dimension for parasitology in the 21st century. parasitologyfor 21st century CAB International. 1996:1-13. www.cabi.org/bookshop/book/9780851989778
3. Mohebalı M, Hajjara n H, Hamzavi Y, Mobedi I, Arshi S, Zarei Z, et al. Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniosis in the Islamic Republic of Iran. Vet Parasitol. 2005 May 15;129(3-4):243-51. doi: 10.1016/j.vetpar.2005.01.010. PMID: 15845279.
4. Mohebalı M, Moradi-Asl E, Rassi Y. Geographic distribution and spatial analysis of Leishmania infantum infection in domestic and wild animal reservoir hosts of zoonotic visceral leishmaniasis in Iran: A systematic review. J Vector Borne Dis. 2018 Jul-Sep;55(3):173-83. doi: 10.4103/0972-9062.249125. PMID: 30618442.
5. Mohebalı M, Edrissian G, Nadim A, Hajjara n H, Akhounđi 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. 2006:15-25.
6. Edrissian GH, Hafizi A, Afshar A, Soleiman-Zadeh G, Movahed-Danesh AM, Garoussi A. An endemic focus of visceral leishmaniasis in Meshkin-Shahr, east Azerbaijan province, north-west part of Iran and IFA serological survey of the disease in this area. Bull Soc Pathol Exot Filiales. 1988;81(2):238-48. PMID: 3046770.
7. Edrissian GH, Ahanchin A, Gharachahi A, Ghorbani M, Nadim A, Ardehali S, et al. Seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis and search for animal reservoirs in Fars province, southern Iran. Iran J Med Sci. 1993;18(3-4):99-105. [Persian]
8. Mohebalı M, Hamzavi Y, Edrissian GH, Forouzani A. Seroepidemiological study of visceral leishmaniasis among humans and animal reservoirs in Bushehr province, Islamic Republic of Iran. EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal. 2001;7(6): 912-7.
9. Mohebalı M, Hamzavi Y, Edrissian GH, Forouzani A. Seroepidemiological study of visceral leishmaniasis among humans and animal reservoirs in Bushehr province, Islamic Republic of Iran. East Mediterr Health J. 2001 Nov;7(6):912-7. PMID: 15332732. [Persian]
10. Layegh Gigloo A, Sarkari B, Rezaei Z, Hatam GR, Davami MH. Asymptomatic Leishmania Infected Children: A

- Seroprevalence and Molecular Survey in a Rural Area of Fars Province, Southern Iran. *J Trop Med*. 2018 May 15;2018:8167247. doi: 10.1155/2018/8167247. PMID: 29861748; PMCID: PMC5976912.
11. Sarkari B, Rezaei Z, Mohebalı M. Immunodiagnosis of Visceral Leishmaniasis: Current Status and Challenges: A Review Article. *Iran J Parasitol*. 2018 Jul-Sep;13(3):331-41. PMID: 30483323; PMCID: PMC6243177.
 12. Mohammadiha A, Haghighi A, Mohebalı M, Mahdian R, Abadi AR, Zarei Z, et al. Canine visceral leishmaniasis: a comparative study of real-time PCR, conventional PCR, and direct agglutination on sera for the detection of *Leishmania infantum* infection. *Vet Parasitol*. 2013 Feb 18;192(1-3):83-90. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.10.013. Epub 2012 Oct 26. PMID: 23153824.
 13. Soleimanzadeh G, Edrissian GH, Movahhed-Danesh AM, Nadim A. Epidemiological aspects of kala-azar in Meshkin-Shahr, Iran: human infection. *Bull World Health Organ*. 1993;71(6):759-62. PMID: 8313493; PMCID: PMC2393533.
 14. Sofizadeh A, Hanafi-Bojd AA, Shoraka HR. Modeling spatial distribution of *Rhombomys opimus* as the main reservoir host of zoonotic cutaneous leishmaniasis in northeastern Iran. *Journal of vector borne diseases*. 2018 Oct 1;55(4):297.
 15. Mohebalı M. Visceral leishmaniasis in Iran: Review of the Epidemiological and Clinical Features. *Iran J Parasitol*. 2013 Jul;8(3):348-58. PMID: 24454426; PMCID: PMC3887234.
 16. Rajabi M, Mansourian A, Pilesjö P, Bazmani A. Environmental modelling of visceral leishmaniasis by susceptibility-mapping using neural networks: a case study in north-western Iran. *Geospat Health*. 2014 Nov;9(1):179-91. doi: 10.4081/gh.2014.15. PMID: 25545935.
 17. Moshfe A, Mohebalı 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 Trop*. 2009 Nov;112(2):101-5. doi: 10.1016/j.actatropica.2009.07.004. Epub 2009 Jul 10. PMID: 19595664.
 18. Moshfe A, Mohebalı 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 Trop*. 2009 Nov;112(2):101-5. doi: 10.1016/j.actatropica.2009.07.004. Epub 2009 Jul 10. PMID: 19595664.
 19. Fakhar M, Motazedian MH, Hatam GR, Asgari Q, Kalantari M, Mohebalı M. Asymptomatic human carriers of *Leishmania infantum*: possible reservoirs for Mediterranean visceral leishmaniasis in southern Iran. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*. 2008 Oct 1;102(7):577-83. doi: 10.1179/136485908x337526
 20. Fakhar M, Mohebalı M, Barani M. Identification of Endemic Focus of Kala-azar and Seroepidemiological Study of Visceral Leishmania Infection in Human and Canine in Qom Province, Iran. *Armaghane danesh*. 2004;9(1):43-52. [Persian]
 21. Ashkanifar S, Aalami MH, Mohebalı M, Amadeh M, Hosseini Farrash BR. Seroepidemiologic study of asymptomatic visceral leishmaniasis among children living in rural areas of North and Central Khorasan, Iran. *Medical journal of mashhad university of medical sciences*. 2016;59(5):283-92. mjms.mums.ac.ir/article_9298.html
 22. Mohebalı M, Edrissian GH, Shirzadi MR, Akhoundi B, Hajjaran H, Zarei Z, et al. 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*. 2011 Mar;9(2):67-74. doi: 10.1016/j.tmaid.2011.02.003. Epub 2011 Mar 17. PMID: 21419708.
 23. Shafiei R, Mohebalı 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 Mar 1;12(2):173-8. doi: 10.1016/j.tmaid.2013.09.001
 24. Mahami M, Mohebalı M, Keshavarz H, Zareei Z. Comparison of direct agglutination test (DAT), indirect immunofluorescent antibody (IFAT) and ELISA in diagnosis of visceral leishmaniasis. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*. 2008;8(1):77-83. [Persian]
 25. Molaie S, Mohebalı M, Gangi A, Pourfarzi F, Emdadi D, Modarres-sadrani N, et al. Seroepidemiological study of visceral leishmaniasis (Kala-azar) in Ardabil Province, Iran, 1986–2009. *Armaghane Danesh Bimonthly Journal*. 2010;15(3):262-72. [Persian]