

شیوع سرمی لیشمانیازیس احشایی به روش آگلوتیناسیون مستقیم در کودکان زیر ۱۲ سال و سگهای شهرستان دهلران در سال ۱۳۹۳

ساسان خزاعی^۱، محمد گرگی پور^۱، هوشنگ خزان^{۱*}، مهدی محیعی^{۲،۳}، بهناز آخوندی^۲، بهرام کاظمی^۱، اذن الله آذرگش^۴

۱. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳. مرکز تحقیقات انگل های بومی ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴. گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: هوشنگ خزان

ایمیل: khazan_h36@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۸/۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۴/۱۵

چکیده

زمینه و اهداف: لیشمانیازیس جزء بیماری های انگلی با اهمیت در جهان محسوب می شود. مطالعه حاضر جهت تعیین شیوع سرمی لیشمانیازیس احشایی در انسانها و سگها به عنوان مخزن بیماری در شهرستان دهلران استان ایلام، به روش آگلوتیناسیون مستقیم، در سال ۱۳۹۳ صورت گرفت.

مواد و روشها: در این مطالعه توصیفی تحلیلی، تعداد ۸۷۲ نمونه از کودکان زیر ۱۲ سال و ۵۲ نمونه سگ، از ۱۰ روستا واقع در ۴ منطقه جغرافیایی شهرستان دهلران، به صورت خوشه ای تصادفی جمع آوری شد. پس از جداسازی سرم از خون، در آزمایشگاه لیشمانیازیس دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران بر روی همه نمونه ها تست آگلوتیناسیون مستقیم انجام شد.

یافته ها: در کل از ۸۷۲ نمونه انسانی، ۹ مورد آنتی بادی ضد لیشمانیا با تیتراژ ۱:۱۶۰۰ و ۹ مورد آنتی بادی ضد لیشمانیا با تیتراژ ۱:۸۰۰ مشاهده شد. از ۵۲ نمونه سگ، ۱۱ مورد آنتی بادی ضد لیشمانیا با تیتراژ ۱:۳۲۰ و بالاتر مشاهده شد و در ۱۳ مورد عیار آنتی بادی ۱:۸۰ و ۱:۱۶۰ بود.

نتیجه گیری: در هیچ یک از نمونه های انسانی آنتی بادی ضد لیشمانیا با تیتراژ ۱:۳۲۰۰ مشاهده نشد، همچنین هیچ یک از سگ های مورد بررسی علائم بالینی نداشتند. این نشان می دهد که سگ های بدون علامت همانند سگ های علامت دار قادر هستند بیماری را انتقال دهند و نقش فعالی در چرخه زندگی لیشمانیا اینفانتوم داشته باشند. مطالعه حاضر نشان دهنده وجود چرخه بیماری در منطقه می باشد. جهت تعیین وضعیت اپیدمیولوژیک منطقه، مطالعه روی ناقلین بیماری و سگ سانان وحشی به عنوان مخازن بیماری پیشنهاد می شود.

کلید واژه ها: لیشمانیازیس احشایی، آگلوتیناسیون مستقیم، شیوع سرمی، دهلران

روش‌های سرولوژی حساس و غیرتهاجمی هستند و برای شرایط صحرایی بسیار مفید هستند (۲۰). در این مطالعه از آگلوتیناسیون مستقیم به عنوان روشی سرولوژیکی جهت تشخیص استفاده شد که روشی ساده، ارزان و معتبر می‌باشد و نیاز به تجهیزات آزمایشگاهی خاصی ندارد (۹، ۱۳، ۲۱-۲۳).

به دلیل وجود موارد گزارش شده طی ۱۰ سال اخیر و عدم وجود گزارش رسمی از موارد کالآزار در شهرستان دهلران، این مطالعه اولین بار در این شهرستان، جهت تعیین وضعیت اپیدمیولوژیکی بیماری در انسان و مخازن، در سال ۱۳۹۳ صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

موقعیت جغرافیایی شهرستان دهلران:

شهرستان دهلران با دارا بودن ۶۳۶۷۱ نفر جمعیت (۴۰۱۸۲ شهری، ۲۰۷۳۲ روستایی و ۲۷۵۷ سیاری) و ۴۸ روستا در استان ایلام واقع می‌باشد. ارتفاع شهرستان دهلران از سطح دریا ۲۱۵ متر و در میان سایر شهرهای استان بیشترین مرز مشترک را با کشور عراق داراست. موقعیت چهارگانه شهر عبارتند از: شمال به شهرستان آبدانان، جنوب به کشور عراق، شرق به شهرستان اندیمشک با فاصله ۱۰۰ کیلومتر و در نهایت از غرب در ۹۰ کیلومتری شهرستان مهران و ملکشاهی و ۲۳۰ کیلومتری از شهر ایلام قرار دارد. آب و هوای شهرستان به صورت بیابانی و نیمه‌بیابانی و گرم و خشک است و در فصل تابستان دمای هوا به بالاتر از ۵۰ درجه سانتی‌گراد هم می‌رسد.

نحوه جمع‌آوری اطلاعات:

جمع‌آوری اطلاعات کودکان زیر ۱۲ سال از طریق پرسشنامه‌ای که از قبل تهیه شده بود صورت گرفت. در مورد سگ‌ها نیز اطلاعاتی مانند سن و جنس از صاحب سگ گرفته می‌شد و علائم بالینی نیز در صورت وجود به فرم اضافه می‌گردد.

نمونه‌برداری و گروه هدف:

این مطالعه به صورت توصیفی تحلیلی، در سال ۱۳۹۳ در مناطق روستایی شهرستان دهلران صورت گرفت. به منظور رعایت پراکندگی در شهرستان دهلران، ابتدا تمامی روستاها شماره‌گذاری شده، سپس شهرستان را از روی نقشه تقریباً به طور مساوی به دو نیمه شرقی و غربی تقسیم کرده و بر حسب تعداد و جمعیت روستاها در هر قسمت، تعدادی روستا به طور تصادفی انتخاب گردیدند. تعداد نمونه‌های انسانی بر اساس فرمول حجم نمونه محاسبه شدند و تعداد نمونه‌های مخازن

لیشمانیازیس احشایی یا تب دام، بیماری منتقله بوسیله بندپایان است و عامل آن کمپلکس *Leishmania infantum dono-vani* می‌باشد. لیشمانیازیس که در اکثر نقاط دنیا وجود دارد، به صورت ضایعات پوستی (سالک)، احشایی (کالآزار) و جلدی-مخاطی بروز می‌کند. نوع احشایی این بیماری، فرم کشنده آن محسوب می‌شود. معمولاً موارد درمان نشده به مرگ می‌انجامد و بسیاری از مواردی که منجر به مرگ می‌شوند شامل موارد درمان نشده هستند (۱، ۲). لیشمانیازیس جزء بیماری‌های اندمیک ایران و بیش از ۸۰ کشور جهان محسوب می‌شود (۳). لیشمانیازیس احشایی دومین بیماری کشنده انگلی پس از مالاریا محسوب می‌شود. میزان بروز سالیانه کالآزار در جهان ۵۰۰ هزار مورد و میزان مرگ‌ومیر ناشی از آن ۵۹۰۰۰ مورد تخمین زده شده است (۴، ۵). کالآزار به صورت وسیعی در منطقه شرق خاورمیانه وجود دارد و عامل آن *Leishmania infantum familiaris Canis* مخازن آن اغلب سگ‌های اهلی (*Phlebotomus omus*) و ناقلین آن گونه‌های مختلف پشه‌خاکی از جنس *omus* هستند (۶). لیشمانیازیس در ایران به دو شکل جلدی و احشایی وجود دارد و فرم جلدی مخاطی آن تاکنون گزارش نشده است. در ایران سالانه حدود ۲۰ هزار مورد نوع جلدی و ۳۰۰-۱۰۰۰ مورد نوع احشایی گزارش می‌شود (۷-۹).

این بیماری در بخش‌هایی از ایران از جمله اردبیل، فارس، آذربایجان شرقی، بوشهر، کرمان، قم و شمال خراسان اندمیک است و تقریباً به صورت اسپورادیک در دیگر استان‌های ایران گزارش شده است (۹-۱۶). اکثراً بیماری کالآزار در کودکان مشاهده می‌شود و علائم آن شامل تب، بزرگی طحال و کبد، رنگ‌پریدگی، لنفادنوپاتی و کاهش تمام سلول‌های خونی می‌باشد. این بیماری اغلب به خاطر خونریزی‌های داخلی و عفونت‌های ثانویه می‌تواند کشنده می‌باشد (۸).

در درمان تمام موارد لیشمانیازیس از جمله نوع احشایی، ترکیبات پنج‌ظرفیتی آنتیموان مورد استفاده قرار می‌گیرد. دو نوع از آنتیموان‌های پنج‌ظرفیتی به نام استیبوگلوکونات سدیم (پنتوستام) و مگلو مین آنتیموان (گلوکانتیم) در سال ۱۹۴۰ به عنوان داروی ردیف اول درمان لیشمانیازیس معرفی شدند. در سال‌های اخیر داروهای زیادی به صورت تزریقی و یا خوراکی از جمله پاراموماسین، کتوکونازول و یا آلپورینول به عنوان درمان همراه توصیه شده‌اند اما امروزه به دلیل نتایج متغیری که داشته‌اند چندان توصیه نمی‌شوند. داروی مطلوبی که در سال‌های اخیر معرفی شده میلتفوسین است و مصرف خوراکی دارد (۱۷-۱۹).

یافته ها

نتایج نمونه‌های انسانی

در کل ۸۷۲ نمونه جمع‌آوری شد. در بین نمونه‌های گرفته شده حداقل سن ۱.۵ ماه و بیشترین سن ۱۲ سال بود. بر اساس نتایج تست DAT در کل ۲۰ نفر از افراد سرولوژی مثبت بودند که ۱۱ نفر دارای تیتراژ ۱:۸۰۰ و ۹ نفر دارای تیتراژ ۱:۱۶۰۰ بودند. بیشترین موارد سرولوژی مثبت، ۱۲ مورد (۳۷.۱٪) مربوط به گروه سنی ۹-۱۲ سال بود. لازم به ذکر است که بعد از گذشت ۶ ماه *Follow up*، خونگیری مجدد از موارد سرولوژی مثبت انجام پذیرفت و در هیچ یک از موارد تیتراژ بالا رونده مشاهده نشد. از مجموع افراد سرولوژی مثبت ۷ نفر مذکر و ۱۳ نفر مؤنث بودند. هیچ یک از افراد سرم مثبت سابقه مسافرت به مناطق اندمیک بیماری را نداشتند.

نتایج نمونه‌های سگ

در کل ۵۳ نمونه جمع‌آوری شد. در بین نمونه‌های گرفته شده حداقل سن ۳ ماه و بیشترین سن ۱۵ سال بود. نتایج حاصل از تست DAT نشان می‌دهد که در مجموع ۲۴ مورد دارای تیتراژ آنتی‌بادی بودند. به این ترتیب که ۱۰ مورد عیار ۱:۸۰، ۳ مورد عیار ۱:۱۶۰ و ۱۱ مورد دارای تیتراژ ۱:۳۲۰ و بالاتر بودند. بیشترین شیوع سرمی در گروه سنی ۷ سال و بالاتر مشاهده شد.

بحث

لیشمانیازیس احشایی بدخیم‌ترین فرم انواع لیشمانیازیس است و جزء بیماری‌های انگلی کشنده در جهان محسوب می‌شود (۴). ۶۰٪ بیش از ۹۰٪ موارد لیشمانیازیس احشایی در شش کشور بنگلادش، برزیل، اتیوپی، هند، جنوب سودان و سودان رخ می‌دهد و حدود ۳۱۰ میلیون نفر در شش کشور ذکر شده در معرض خطر ابتلا به این بیماری هستند. میزان مرگ و میر سالانه لیشمانیازیس احشایی بیش از ۲۰۰،۰۰۰ نفر برآورد شده است (۲۴). این بیماری در اکثر مناطق ایران به صورت اسپورادیک گزارش شده است و در مناطقی از کشور شامل اردبیل، فارس، آذربایجان شرقی، بوشهر، قم و خراسان شمالی به صورت اندمیک می‌باشد (۹-۱۶). با توجه به اینکه هیچ گزارش رسمی از موارد کالاآزار در شهرستان دهلران در دست نبود، این مطالعه جهت تعیین وضعیت اپیدمیولوژیکی بیماری هم در انسان و هم مخازن این منطقه صورت گرفت. با توجه به اینکه تست DAT روشی ساده، ارزان، معتبر، قابل انجام در مطالعات میدانی و با حساسیت و ویژگی بالا می‌باشد در این مطالعه از تست DAT استفاده شد (۹، ۱۶، ۲۵، ۲۶). بر اساس مطالعات انجام شده در ایران تقریباً ۹۹٪ از نمونه‌های سرولوژی مثبت در مناطق اندمیک

نیز به نسبت نمونه‌های انسانی در هر روستا انتخاب شدند. گروه هدف کودکان زیر ۱۲ سال و سگ‌های اهلی ۱۰ روستای منتخب شهرستان دهلران بودند که برای هر نمونه ۲-۳ میلی لیتر خون گرفته می‌شد و سپس نمونه‌ها با حفظ زنجیره سرد به بیمارستان شهرستان منتقل می‌شدند و سرم آنها با سانتریفیوژ در دور ۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه جدا گردید و تا زمان انجام تست آگلوتیناسیون مستقیم در فریزر -۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تست آگلوتیناسیون مستقیم:

تمامی سرم‌های تهیه شده انسانی و مخازن در آزمایشگاه لیشمانیازیس دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران از نظر وجود آنتی‌بادی ضد لیشمانیا، با استفاده از روش تست آگلوتیناسیون مستقیم مورد آزمایش قرار گرفتند.

آنتی‌ژن در واحد تک‌پاخته‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه می‌گردید که این مراحل به اختصار شامل تکثیر انگل در محیط RPMI 1640 دارای ۱۰٪ سرم جنین گاوی، تریپسینه کردن اشکال تاژکدار *L. infantum*، ثابت کردن انگل با فرمالین ۲٪ و رنگ‌آمیزی توسط کوماسی بلو با غلظت ۰.۰۲٪ می‌باشد. پس از تثبیت پروماستیگوت‌های رنگ‌آمیزی شده در سیترات سدیم حاوی ۱.۲٪ فرمالین و با قرار دادن ۵۰ میلیون پروماستیگوت در هر میلی‌لیتر، آنتی‌ژن را با فویل آلومینیومی پوشانده، در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌کنیم. آنتی‌ژن مورد نیاز جهت این تحقیق، در آزمایشگاه لیشمانیازیس دانشکده بهداشت دانشگاه تهران از قبل تهیه و آماده گردیده بود.

رقیق‌سازی سرم‌های انسانی به کمک محلول رقیق‌کننده حاوی ۰.۷۸ درصد دومرکاپتواتانول و برای نمونه‌های سگ حاوی ۱.۵۶ درصد دومرکاپتواتانول و پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای V شکل انجام شد. پس از رقت‌سازی نمونه‌های سگ، به مدت یک ساعت پلیت‌ها در انکوباتور (دمای ۳۷ درجه) قرار داده می‌شدند. در تست DAT پروماستیگوت‌های موجود در آنتی‌ژن، در مجاورت رقت‌های مختلف سرم قرار گرفتند و در صورت وجود آنتی‌بادی ضد لیشمانیا در سرم فرد بیمار، پس از گذشت ۱۸ ساعت آگلوتیناسیون صورت گرفت. ابتدا به منظور غربالگری، سرم‌ها در رقت ۱:۸۰۰ بررسی شده و در صورت مثبت شدن تیتراسیون تا رقت ۱:۱۰۲۴۰۰ انجام می‌گرفت. برای نمونه‌های انسانی عیارهای ۱:۳۲۰ و بالاتر مثبت، عیارهای ۱:۸۰۰ و پایین‌تر منفی و ۱:۱۶۰۰ مشکوک و برای نمونه‌های سگ عیارهای ۱:۳۲۰ و بالاتر مثبت، ۱:۸۰ و پایین‌تر منفی و ۱:۱۶۰ مشکوک در نظر گرفته می‌شدند.

موارد مثبت در میان سگ‌ها (۱۱.۵۳٪) در سن ۷ سال و بالاتر مشاهده شد که مطالعات مالماسی و همکاران در سال ۱۳۹۳ در تهران، کرج، حدادزاده و همکاران در سال ۱۳۹۲ در استان البرز، مشفق و همکاران در سال ۱۳۸۷ در منطقه مشکین‌شهر با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارند (۱۵، ۳۰، ۳۱). لازم به ذکر است که در این مطالعه ۲۶.۹۲٪ موارد سرولوژی مثبت سگ‌ها مذکر و ۱۹.۲۳٪ آنها مونث بودند. بین شیوع موارد مثبت و دو جنس مذکر و مونث اختلاف معناداری مشاهده نشد که با مطالعات دیگر محققین هم‌خوانی دارد (۱۵، ۲۱، ۳۱-۳۳).

نتیجه گیری

به نظر می‌رسد در شهرستان دهلران چرخه لیشرمانیازیس احشایی حداقل در میان سگ‌ها در جریان است و برای کنترل بیماری در این منطقه نابودی سگ‌های ولگرد، شناسایی افراد مشکوک و بررسی صاحبان سگ‌ها ضروری به نظر می‌رسد. لزوم آگاهی و درک پزشکان از بیماری و علائم بالینی آن در این منطقه بسیار مفید خواهد بود، چرا که تشخیص اولیه و درمان از بروز بیماری شدید، از مرگومیر احتمالی ناشی از آن می‌کاهد.

تقدیر و تشکر

در پایان لازم است از همکاری‌های بی‌دریغ مدیریت و کارکنان مرکز بهداشت شهرستان دهلران خصوصاً آقای آدینه ریاست محترم حراست مرکز بهداشت شهرستان، آقای چتری‌پور، شریفی، صادقی و همچنین کارکنان آزمایشگاه بیمارستان شهدا خصوصاً آقای منصوری مسئول آزمایشگاه بیمارستان و به ویژه آقای آدینه و باسره که انجام این تحقیق بدون وجود ایشان میسر نبود، قدردانی گردد. همچنین نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از همکاری مدیران مدارس، بهورزان روستاهای منتخب و مردمان عزیز مناطق تحت بررسی تشکر و قدردانی نماییم.

بیماری در افراد زیر ۱۲ سال مشاهده شده است (۸) که بر همین اساس در مطالعه حاضر نیز نمونه‌گیری از افراد زیر ۱۲ سال انجام شد. نتایج این مطالعه که در سال ۱۳۹۳ در شهرستان دهلران صورت گرفت، نشان می‌دهد که شیوع سرمی بیماری در بین ۸۷۲ نمونه انسانی بررسی شده ۲.۲۹٪ می‌باشد که ۱.۲۶٪ نمونه‌ها تیترا ۱:۸۰۰ و ۱.۰۳٪ نمونه‌ها هم تیترا ۱:۱۶۰۰ داشتند که این بیانگر در معرض قرار گرفتن عفونت و مواجهه این افراد با انگل می‌باشد. در هیچکدام از نمونه‌ها تیترا ۱:۳۲۰۰ و بالاتر که نشان‌دهنده عفونت لیشرمانیازیس احشایی می‌باشد، مشاهده نشد. لازم به ذکر است که هیچ مورد مثبت سرمی در گروه سنی زیر ۱ سال مشاهده نشد که این مساله احتمالاً به دلیل تماس کمتر این کودکان با پشه‌های ناقل عفونت به دلیل نوع پوشش و یا به دلیل طولانی بودن دوره کمون بیماری می‌باشد (۲۵). همچنین شیوع سرمی در بین سگ‌ها با بررسی ۵۲ نمونه ۴۲.۳۰٪ می‌باشد که تیترا ۱:۳۲۰ و بالاتر ۱۱ مورد (۲۱.۱۵٪) گزارش شد.

براساس نتایج این مطالعه، ۷ نفر (۰.۸٪) از افراد دارای تیترا آنتی‌بادی مذکر و ۱۳ نفر (۱.۴۹٪) مونث بودند، ارتباط معنی‌داری بین دو جنس در این مطالعه یافت نشد که با نتایج دیگر محققین هم‌خوانی دارد (۱۶، ۲۵، ۲۶). در مطالعه‌ای که ادریسیان و همکاران در سال ۱۹۹۶ در استان اردبیل انجام دادند به نکته قابل توجهی اشاره شد که علیرغم شیوع بالاتر بیماری در جنس مذکر، شیوع سرواپیدمیولوژیک عفونت بدون علائم بالینی در جنس مونث بیشتر می‌باشد که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (۱۳). اما مطالعات ارشی و همکاران در اردبیل و ادریسیان و همکاران در منطقه مشکین‌شهر و فخار و همکاران در قاهان قم اختلاف شیوع سرمی در دو جنس مذکر و مونث را معنی‌دار گزارش شده است (۱۲، ۲۷، ۲۸). فخار و همکاران در سال ۱۳۸۹ در مازندران با بررسی ۴۰۲ نمونه انسانی به روش DAT، ۸ مورد (۲٪) را با تیترا ۱:۱۶۰۰ مشکوک گزارش کرده و هیچ مورد مثبتی گزارش نکردند که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (۲۹).

شیوع سرمی بیماری (۱:۳۲۰ و بالاتر) در میان سگ‌ها در مطالعه حاضر ۲۱.۱۵٪ گزارش شد. که با مطالعات فخار و همکاران در قاهان استان قم و محمودوند و همکاران در بافت استان کرمان هم‌خوانی دارد (۱۲، ۲۶). در مطالعه‌ای مروری محبعلی و همکاران در سال ۱۳۹۲، کارهای صورت گرفته در زمینه کالآزار را در حد فاصل سال‌های ۱۳۸۱ تا ۱۳۹۱ بررسی نمودند و شیوع سرمی مثبت سگ‌ها را در شمال غرب کشور ۱۹.۶٪-۱۶.۹٪ اعلام نمودند که تا حدودی با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (۸). بیشترین

1. Ardehali S, Rezaei H, Nadim A. *leishmania Parasite and leishmaniasis*. Tehran: Tehran University Publishment Center; 1994.
2. Larry S, Janovy J. *foundation of parasitology*. 7th, editor. New York: Mcm Graw; 2006.
3. Godal T, Ozcel A, Alkan M. *New dimension for parasitology in the 21st century*. parasitology for 21st century CAB International. 1996:1-13.
4. Desjeux P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2001;95(3):239-43.
5. Organization WH. *First WHO report on neglected tropical diseases: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases*. First WHO report on neglected tropical diseases: Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases: WHO; 2010.
6. Organization WH. *The leishmaniasis: report of a WHO expert committee [meeting held in Geneva from 10 to 16 November 1982]*. 1984.
7. Mohebbali M. *Epidemiological status of visceral leishmaniasis in Iran: experiences and review of literature*. *Journal of Clinical & Experimental Pathology*. 2012.
8. Mohebbali M. *Visceral leishmaniasis in Iran: review of the epidemiological and clinical features*. *Iranian journal of parasitology*. 2013;8(3):348.
9. Mohebbali M, Edrissian G, Nadim A, Hajjaran H, Akhoundi B, Hooshmand B, et al. *Application of direct agglutination test (DAT) for the diagnosis and seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis in Iran*. *Iranian journal of parasitology*. 2006;1(1):15-25.
10. EDRISSIAN GH, Nadim A, Alborzi A, AREDEHALI S. *Visceral leishmaniasis; the Iranian experience*. 1998.
11. 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.
12. Fakhar M, Mohebbali 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*. 2004.
13. GhH E, Hajjaran H, Mohebbali M, Soleimanzadeh G, Bokaei S. *Application and evaluation of direct agglutination test in ser-diagnosis of visceral leishmaniasis in man and canine reservoirs in Iran*. *Iranian J Med Sci*. 1996;21:119-24.
14. Mohebbali M, Hamzavi Y, Edrissian GH, Forouzani A. *Seroepidemiological study of visceral leishmaniasis among humans and animal reservoirs in Bushehr province, Islamic Republic of Iran*. 2001.
15. Moshfe A, Mohebbali M, Edrissian G, Zarei Z, Akhoundi B, Kazemi B, et al. *Seroepidemiological study on canine visceral leishmaniasis in Meshkin-Shahr district, Ardabil province, northwest of Iran during 2006-2007*. *Iranian Journal of Parasitology*. 2008;3(3):1-10.
16. Torabi V, Mohebbali M, Edrissian G, Keshavarz H, Mohajeri M, Hajjaran M, et al. *Seroepidemiological survey of visceral leishmaniasis by direct agglutination test in Bojnourd district, north Khorasan province in 2007*. *Iranian Journal of Epidemiology*. 2009;4(3):43-50.
17. Mohebbali M, Fotouhi A, Hooshmand B, Zarei Z, Akhoundi B, Rahnema A, et al. *Comparison of miltefosine and meglumine antimoniate for the treatment of zoonotic cutaneous leishmaniasis (ZCL) by a randomized clinical trial in Iran*. *Acta tropica*. 2007;103(1):33-40.
18. Nadim A, Javadian E, Mohebbali M, Momeni A. *Leishmania parasite and leishmaniasis*. Markaze Nashre Daneshgahi Publ. 2008.

19. Sundar S, Singh A, Rai M, Prajapati VK, Singh AK, Ostyn B, et al. Efficacy of miltefosine in the treatment of visceral leishmaniasis in India after a decade of use. *Clinical infectious diseases*. 2012;55(4):543-50.
20. Hailu A. Pre-and post-treatment antibody levels in visceral leishmaniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 1990;84(5):673-5.
21. Mohebal M, Hajjaran H, Hamzavi Y, Mobedi I, Arshi S, Zarei Z, et al. Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniosis in the Islamic Republic of Iran. *Veterinary parasitology*. 2005;129(3):243-51.
22. Ozbel Y, Oskam L, Ozensoy S, Turgay N, Alkan M, Jaffe C, et al. A survey on canine leishmaniasis in western Turkey by parasite, DNA and antibody detection assays. *Acta Tropica*. 2000;74(1):1-6.
23. Schallig H, Schoone G, Kroon C, Hailu A, Chappuis F, Veeken H. Development and application of 'simple' diagnostic tools for visceral leishmaniasis. *Medical microbiology and immunology*. 2001;190(1-2):69-71.
24. Wwww.WHO.int. Leishmaniasis. 2013.
25. CHEGENI SA, OURMAZDI H, MOHEBALI M, AKHLAGHI L, SHARAFI M, AKHOUNDI B. SEROEPIDEMIOLOGICAL STUDY OF VISCERAL LEISHMANIASIS (HUMAN INFECTION) IN EAST MYANKOOH AREA, IN LORESTAN PROVINCE BY DIRECT AGGLUTINATION TEST (DAT).
26. Mahmoudvand H, Mohebal M, Sharifi I, Keshavarz H, Hajjaran H, Akhoundi B, et al. Epidemiological aspects of visceral leishmaniasis in Baft District, Kerman province, southeast of Iran. *Iranian journal of parasitology*. 2011;6(1):1.
27. Arshi S, Mohebal M, Akhoundi B, SADEGHI BH, Sepeheram V, ZAREEI Z, et al. IDENTIFICATION OF A NEW ENDEMIC FOCUS OF KALA-AZAR AND SEROEPIDEMIOLOGICAL STUDY OF VISCERAL LEISHMANIA INFECTION IN ARDEBIL PROVINCE. 2002.
28. Edrissian G, Hafizi A, Afshar A, Soleiman-Zadeh G, Movahed-Danesh A, 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. *Bulletin de la société de pathologie exotique et de ses filiales*. 1987;81(2):238-48.
29. Fakhar M, Rahmati B, Gohardehi S, Mohebal M, Akhoundi B, Sharif M, et al. Molecular and seroepidemiological survey of visceral leishmaniasis among humans and domestic dogs in Mazandaran Province, North of Iran. *Iranian journal of parasitology*. 2011;6(4):51.
30. Haddadzade H, Fattahi R, Mohebal M, Akhoundi B, Ebrahimzade E. Seroepidemiological investigation of visceral leishmaniasis in stray and owned dogs in Alborz province, Central Iran using direct agglutination test. *Iranian journal of parasitology*. 2013;8(1):152.
31. Malmasi A, Janitabar S, Mohebal M, Akhoundi B, Maazi N, Aramoon M, et al. Seroepidemiologic survey of canine visceral leishmaniasis in Tehran and Alborz Provinces of Iran. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*. 2013;8(2):132-8.
32. Bamorovat M, Sharifi I, Mohammadi MA, Harandi MF, Mohebal M, Afshar RM, et al. Canine Visceral Leishmaniasis in Kerman, Southeast of Iran: A Seroepidemiological, Histopathological and Molecular Study. *Iranian journal of parasitology*. 2014;9(3):342.
33. Bokai S, Mobedi I, Edrissian GhH NA. Seroepidemiological study of canine visceral leishmaniasis in Meshkin-Shahr, northwest of Iran. *Arch Inst Razi*. 1998;41(6):48-9.

جدول ۱: توزیع فراوانی شیوع سرمی افراد به روش DAT بر حسب سن

کل موارد سرولوژی مثبت	عیار آنتی بادی				تعداد کل	گروه سنی	
	تعداد	۱:۱۶۰۰		۱:۸۰۰			
		درصد	تعداد	درصد			تعداد
۰.۴۵٪	۱	۰	۰	۰.۴۵٪	۱	۲۱۹	≥ ۴
۲.۵۱٪	۷	۱.۰۷٪	۳	۱.۴۳٪	۴	۲۷۸	۵-۸
۳.۲٪	۱۲	۱.۶٪	۶	۱.۶٪	۶	۳۷۵	۹-۱۲
۲.۲۹٪	۲۰	۱.۰۳٪	۹	۱.۲۶٪	۱۱	۸۷۲	کل

جدول ۲: توزیع فراوانی شیوع سرمی افراد به روش DAT بر حسب جنس

تعداد کل	نتایج		جنس	
	تعداد	شیوع سرمی		
		درصد		تعداد
۴۱۵	۴۷.۵۹٪	۷	۱.۶۸٪	مذکر
۴۵۷	۵۲.۴۱٪	۱۳	۲.۸۴٪	مونث
۸۷۲	۱۰۰٪	۲۰	۲.۲۹٪	تعداد کل

جدول ۳: توزیع فراوانی شیوع سرمی در سگ‌ها بر حسب عیار آنتی بادی و سن

شیوع سرمی	عیار آنتی بادی						تعداد کل	گروه سنی
	۱:۵۱۲۰	۱:۲۵۶۰	۱:۶۴۰	۱:۳۲۰	۱:۱۶۰	۱:۸۰		
۶	۰	۰	۰	۱	۱	۴	۱۴	≥ ۳
۷	۰	۰	۲	۲	۱	۲	۲۱	۴-۷
۱۱	۱	۲	۲	۱	۱	۴	۱۷	≤ ۷
۲۲	۱	۲	۴	۴	۳	۱۰	۵۲	تعداد کل

جدول ۴: توزیع فراوانی شیوع سرمی در سگ‌ها بر حسب عیار آنتی بادی و جنس

تعداد کل	نتایج		جنس	
	تعداد	شیوع سرمی		
		درصد		تعداد
۳۰	۵۷.۶۹٪	۱۴	۲۶.۹۲٪	مذکر
۲۲	۴۲.۳۱٪	۱۰	۱۹.۲۳٪	مونث
۵۲	۱۰۰٪	۲۴	۴۶.۱۵٪	کل

Seroepidemiological survey of human visceral leishmaniasis and canine visceral leishmaniasis in Dehloran district, Ilam province in 2014

Sasan Khazaei¹, Mohammad Gorgipur¹, Mehdi Mohebbali^{2,3}

Hooshang Khazan^{*1}, Behnaz Akhondi², Bahram Kazemi¹, Eznolah Azargashb⁴

1. Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2. Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3. Center for Research of Endemic Parasites of Iran (CREPI), Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4. Department of Community Medicine, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University, Tehran, IR Iran

*Corresponding author: Khazan Hooshang

E-mail: khazan_h36@yahoo.com

Abstract

Background and Objectives :Leishmaniasis is an important parasitic disease in the world .We performed a seroepidemiological study of visceral leishmaniasis (VL) in Dehloran district ,Ilam province to determine the seroprevalence of infection among humans and dogs using Direct Agglutination Test (DAT).

Material and Methods :In this descriptive analytic study, Sera were collected by a multi-stage randomized cluster sampling from 872 children ≤ 12 years and 52 dogs in 10 villages from four geographical areas in 2014. Direct Agglutination Test (DAT) was done for all samples after serum separation of blood in the leishmaniasis laboratory from the School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences.

Results: In all, of 872 human, 9 samples were shown anti-Leishmania antibody with titers $\geq 1/1600$ and 11 samples with titers $\geq 1/800$. Of 52 dog samples, 11 dog samples with titers $\geq 1/320$ as cut-off values of DAT and 13 with titers 1/80 and 1/160.

Conclusion: None of collected human blood samples showed anti Leishmania infantum antibodies at titers 1:320 as well as None of the dogs had clinical signs. This indicates that asymptomatic dogs also like symptomatic dogs, able to transmit infection and play an active role in the circulation of *Leishmania infantum*. This study confirms the circulation of L. infantum at least among dogs. We reommended that investigate vectors and wild canines as reservoir hosts of VL in the studied areas.

Keywords: Visceral leishmaniasis, DAT, Seroprevalence, Dehloran