Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol. 16, No. 1, Spring 2016, Pages 105-115

Study of Canine Visceral Leishmaniasis in Symptomatic and Asymptomatic Domestic Dogs in Meshkinshahr City, Iran

Molaei S[1], Dalimi A*[1], Mohebali M[2], Zareii Z[2], Mohammadi-Ghalehbin B[3], Akhondi B[2], Azarm A[1]

1. Department of Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Department of Parasitology and Mycology, School of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Department of Microbiology, Medical parasitology and Immunology, School of Medicine, Ardabil University of Medical sciences, Ardabil, Iran

Corresponding author. Tel: +982182883838 Fax: +982182883568 E-mail: dalimi_a@modares.ac.ir

Received: Jun 7, 2015 Accepted: Mar 12, 2016

ABSTRACT

Background & objectives: Visceral leishmaniasis is a zoonotic disease and is considered as the most important disease in dogs. The disease has been reported in North West and South of the country, in Iran. In addition to stray dogs, some apparently healthy dogs can be contaminated without showing any sign or symptoms in this area. In the present study, canine visceral leishmaniasis was investigated in dogs lacking clinical signs in Meshkinshahr city in Ardabil, Iran.

Methods: This study was a cross-sectional survey conducted during 2011-2014. A total of 110 serum samples collected from dogs either having or lacking clinical signs and tested by direct agglutination test (DAT) assay. Then 10 dogs (41.6%) showing clinical signs and 15 dogs (17.4%) without any symptoms were autopsied and their spleens were sampled. The samples were used for smear preparation and culturing.

Results: Based on the results, among 24 dogs with clinical signs 20 cases (83.3%) and of 86 dogs without signs, 16 cases (18.6%) found to be positive. On the other hand, smear and culture results were found to be positive in 100% and 60% of dogs with and without clinical signs, respectively. The interesting and impressive results of this study was that the dogs with symptoms but negative DAT and asymptomatic dogs with negative DAT were positive in parasitological tests.

Conclusion: This proves that asymptomatic dogs like symptomatic dogs can be effective in *L. infantum* infection and is able to maintain the transmission of the disease in endemic areas. On the other hand**,** a number of symptomatic dogs with negative anti-leishmania antibodies were positive in parasitological tests. Thus, this study also shows that although DAT is effective in determining asymptomatic dogs and canine visceral leishmaniosis control programs but it does not seem to be satisfying in endemic areas such as Meshkin-shahr. Thus in endemic areas, it is recommended that the low antibody titer should be considered.

Key words: Visceral Leishmaniasis; Dog; Direct Agglutination test; Meshkin-shahr.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-01-12]

بررسی لیشمانیوز احشایی در سگ‌های خانگی فاقد علائم و دارای علائم بالینی در شهرستان مشکین شهر

سهیلا مولایی[۱]، عبدالحسین دلیمی[۱]*، مهدی محبعلی[۲]، ذبیح الله زارعی[۲]، بهنام محمدی قلعه بین[۳]، بهناز آخوندی[۲]، امراله آذرم[۱]

۱. گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران ۲. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران ۳. گروه میکروب شناسی، انگل شناسی پزشکی و ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۲۱۸۲۸۸۳۸۳۸ فاکس: ۰۲۱۸۲۸۸۳۵۶۸ پست الکترونیک: dalimi_a@modares.ac.ir

زمینه و هدف: لیشمانیازیس احشایی از مهمترین بیماری های زئونوز کشور ایران بشمار می آید. این بیماری در سگ های مناطق شمال غرب و جنوب کشور گزارش شده است. در این مناطق علاوه برآلودگی سگ های ولگرد، سگ های خانگی به ظاهر سالم می توانند بدون نشان دادن علایم آلوده شوند. هدف این مطالعه بررسی لیشمانیوز احشایی در سگ های خانگی فاقد علایم بالینی و مقایسه آنها با سگ های دارای علایم در شهرستان مشکین شهر بوده است.

روش کار: این مطالعه از نوع توصیفی – مقطعی و طی سالهای ۹۳-۱۳۹۱ انجام گرفت. مجموعا از تعداد ۱۱۰ قلاده سگ خانگی اعم از واجد علائم(۲٤ قلاده) و یا فاقد علائم بیماری(۸۶ قلاده)، نمونه سرم گرفته شد و با روش DAT (آزمایش آگلوتیناسیون مستقیم) مورد آزمایش قرار گرفت. سپس این سگ ها در طی چهار دوره شش ماهه از نظر تیتر آنتی بادی، علایم بیماری و پارازیتولوژی مورد بررسی قرار گرفتند. در نهایت بر روی ۱۰قلاده (٤۱/۶٪) از سگهای واجد علایم و ۱۵ قلاده (۱۷/٤٪) از سگهای فاقد علایم ، کالبدگشایی انجام و از بافت طحال آنها اسمیر تهیه و کشت نیز داده شد.

یافته ها: بر اساس نتایج حاصله، از ۲٤ قلاده سگ های دارای علایم بالینی ، تعداد ۲۰ مورد (۸۳/۳٪) و از ۸۶ قلاده سگ فاقد علایم ۱۶ مورد (۱۸/۶٪) با آزمایش DAT مثبت بودند. نتایج اسمیر و کشت در ۱۰۰٪ سگ های دارای علایم بالینی و ۶۰٪ سگ های فاقد علایم بالینی مثبت بود. از نتایج بسیار جالب و قابل توجه این مطالعه این بود که سگهای فاقد علایم آنتی بادی منفی(۱۳/٤٪)، از نظرپارازیتولوژی مثبت شدند.

نتیجه گیری: سگ های فاقد علائم همانند سگهای علامت دار قادر به نگهداری عفونت *لیشمانیا اینفانتوم* بوده و میتوانند در برقراری چرخه انتقال بیماری در مناطق اندمیک، نقش داشته باشند.در مطالعه حاضر تعدادی از سگ های دارای علایم از نظر آنتی بادی ضد لیشمانیا منفی بوده ولی از نظر پارازیتولوژی مثبت نشان دادند. از طرفی تعدادی از سگ های فاقد علایم و با تیترآنتی بادی منفی، از نظر پارازیتولوژی مثبت نشان دادند. با توجه به این نتایج با وجود موثر بودن تست سرولوژیکی DAT در تشخیص آلودگی سگ های بدون علامت و اهمیت آن در اجرای برنامه های کنترل لیشمانیوز احشایی، این تست به تنهائی نمی تواند مورد استفاده قرار گیرد و در مناطق اندمیک بایستی تیتر آنتی بادی با مقادیر بسیار کم نیز، مورد توجه قرار گیرد وطی بازه زمانی حد اقل یکساله مورد بررسی قرار گیرد و یا از تست های دیگر جهت تشخیص کمک گرفته شود.

واژه های کلیدی: لیشمانیوز احشایی، سگ، آزمایش آگلوتیناسیون مستقیم، مشکین شهر

دریافت: ۹٤/۱۰/۱۷ **پذیرش:** ۹٤/۱۲/۲۲

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-01-12]

مقدمه

لیشمانیازیس احشایی از مهمترین بیماری‌های زئونوز است که در ۶۲ کشور اندمیک بوده و حدود ۲۰۰ میلیون نفر در معرض خطر ابتلا به آن قرار دارند [۱]. در مناطق مدیترانه عامل آن *لیشمانیا اینفانتوم* بوده و در صورت عدم درمان کشنده است [۲]. در ایران *لیشمانیازیس* احشایی انسانی بطور اسپورادیک در تمام نقاط کشور دیده می‌شود اما مناطق شمال غرب و جنوب کشور کانون‌های اندمیک بیماری هستند. تخمین زده می‌شود که سالیانه تقریباً ۳۰۰-۱۰۰ مورد جدید دیده شود [۳] که اغلب از مشکین شهر که یکی از مهمترین کانون‌های اندمیک بیماری است گزارش می‌شود [٤]. سگ‌های اهلی مهمترین مخزن برای لیشمانیازیس احشایی انسان است [۵،۶].

لیشمانیوز احشایی سگ[1] در مناطق شمال غرب و جنوب کشور ایران اندمیک بوده و میزان شیوع آن از ١٤/٢ تا ١٧/٤ درصد فرق می‌کند [۷]. به دلیل اینکه انگل‌های جدا شده از سگ‌ها همان انگل‌های جداشده از انسان می‌باشد [۸]، از طرفی میزان آلودگی در سگ‌ها حتی سگ‌های بدون علامت بسیار بالاست [۹]، و ارتباط مستقیم ما بین سگ‌های آلوده و میزان شیوع در انسان وجود دارد، بنابراین در مناطق اندمیک سگ‌های خانگی و صاحب‌دار یک عامل خطر مهم برای لیشمانیوز احشایی انسان هستند [۱۰،۱۱].

اولین مورد لیشمانیوز احشایی سگ در ایران در سال ۱۹۱۳ در تهران گزارش شد [۱۲] و به دنبال آن موارد دیگری از سایر نقاط کشور گزارش گردید [۱۳،۱٤]. در این رابطه، مطالعه‌ای طی سال‌های ۲۰۰۳-۱۹۹۹، توسط محبعلی و همکاران در چندین منطقه از کشور شامل استان‌های اردبیل،آذربایجان شرقی، قم، چهارمحال بختیاری، خوزستان و بوشهر انجام گرفت [۲]. مظلومی و همکاران میزان شیوع لیشمانیازیس احشایی سگ را در شهرستان‌های مشکین شهر و گرمی از استان اردبیل و شهرستان کلیبر از استان آذربایجان شرقی بررسی کردند [۱۱]. همچنین مشفع و همکاران مطالعه‌ای را در شهرستان مشکین شهر بر روی سگ‌های فاقد علامت انجام دادند [۱۵]. خان محمدی و همکاران نیز مطالعه‌ای را بر روی سگ‌های خانگی در شهرستانهای مرند و سراب از استان آذربایجان شرقی انجام دادند [۱۶، ۱۷]. محمدی قلعه بین و همکاران سگ‌های علائم‌دار و فاقد علائم را در شهرستان مشکین شهر بررسی کردند [۱۰]. براتی و همکاران نیز در مطالعه‌ای میزان لیشمانیازیس احشایی را در سگ‌های خانگی در شهرستان مشکین شهر بررسی کردند [۱۸].

تظاهرات بالینی بیماری از فرم بدون علامت، عفونت محدودشونده تا لیشمانیوز احشایی کشنده فرق می‌کند. دوره کمون بیماری لیشمانیوز احشایی سگ (CVL) از چند ماه تا سال‌ها طول می‌کشد که بسته به حدت انگل و استعداد ژنتیکی میزبان دارد [۱۹]. در این بیماری علاوه بر سگ‌های علامت‌دار، سگ‌های بدون علامت هم منبع عفونت هستند [۲۰]. مطالعات سرواپیدمیولوژی برای لیشمانیوز احشایی سگ تعداد زیادی از حیوانات سرم مثبت فاقد علائم را مشخص می‌کند [۲۳-۲۱]. در بین روش‌های سرولوژی، تست آگلوتیناسیون مستقیم (DAT) اولین خط روش تشخیص در اکثر کشورهای در حال توسعه است [۲٤]. بر اساس مطالعات پیشین این تست یک روش ساده، با حساسیت و ویژگی بالا، قابلیت تکرارپذیری و ارزان است و انجام دادن آن به وسایل پیچیده و گران قیمت نیاز ندارد، بنابراین یک روش مناسب برای مطالعات و بررسی در فیلد است [۲۶،۲۷]. مشخص گردیده است که در برنامه‌های کنترلی لیشمانیوز احشایی سگ، کنترل مخازن و کنترل سگ‌های فاقد علائم به اندازه سگ‌های علامت‌دار مهم بوده [۲۷،۲۰] و بایستی مدنظر قرار بگیرند. هدف این مطالعه بررسی لیشمانیوز احشایی در سگ‌های خانگی فاقد علائم بالینی در طی چهار

[1] Canine Visceral Leishmaniosis(leishmaniasis)

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-01-12]

دوره بصورت مورد به مورد[1] و مقایسه آنها با سگ‌های دارای علائم در شهرستان مشکین شهر بوده است.

روش کار

این مطالعه در شمال غرب ایران در شهرستان مشکین شهر جایی که لیشمانیوز احشایی در انسان و سگ اندمیک است، انجام گرفت. شهرستان مشکین‌شهر در استان اردبیل، ۱۴۹۰ متر بالاتر از سطح دریا واقع شده است. ۴۲ درصد از مردم آنجا در مناطق شهری ساکن هستند و ۵۸ درصد در مناطق روستایی زندگی می‌کنند. آب و هوای منطقه معتدل کوهستانی است. در این شهرستان تعداد زیادی سگ در خانه‌ها بعنوان نگهبان خانه و گله‌ها و نزدیک افراد خانواده زندگی می‌کنند.

جمع‌آوری نمونه‌ها

این مطالعه از نوع توصیفی- مقطعی[2] و طی سال‌های ۹۳-۱۳۹۱ انجام گرفت. برای انجام مطالعه، ابتدا مطالعه ابتدایی[3] بر روی ۱۰۰ نمونه انجام گرفت که تعداد ۳۳ سگ آلوده بودند. بر همین اساس با استفاده از فرمول تعیین تعداد نمونه، تعداد نمونه‌ها ۱۲۴ عدد برآورد شد که با توجه به محدودیت‌های محلی و عدم همکاری بعضی از صاحبان سگ تعداد ۱۱۰ نمونه جمع‌آوری گردید. نمونه‌های سرم از ۱۱۰ سگ خانگی طی چهار دوره ابتدای سال ۱۳۹۱، انتهای سال ۱۳۹۱، ابتدای سال ۱۳۹۲ و ابتدای سال ۱۳۹۳ جمع‌آوری گردید. این فاصله زمانی برای ارزیابی سگ‌ها از نظر علائم بیماری و تیتر آنتی‌بادی در نظر گرفته شد. در طی این مدت علاوه بر جمع‌آوری سرم، سگ‌ها از نظر وجود و یا عدم وجود علائم اختصاصی بیماری مورد بررسی قرار گرفتند. قبل از خونگیری اطلاعات مربوط به سن و جنس سگ از صاحب سگ پرسیده شده و در پرسشنامه‌ای ثبت گردید. علاوه بر سن و جنس سگ متغیرهایی مثل سگ علائم‌دار، سگ فاقد علائم، اسمیر مستقیم از طحال و کشت در نظر گرفته شد. در هر نمونه‌گیری، ۵ میلی لیتر خون کامل از هر سگ تهیه و در دور ۸۰۰g به مدت ۱۰- ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید، سپس سرم‌ها جدا و در لوله‌های جداگانه تقسیم و تا زمان انجام آزمایش در ۲۰°c- ذخیره گردید. تمام نمونه‌ها به آزمایشگاه تشخیصی لیشمانیوز واقع در شهرستان مشکین شهر منتقل و با روش DAT مورد بررسی قرار گرفتند. در نهایت سگ‌های سرم مثبت با تیتر افزایشی آنتی‌بادی ضد لیشمانیا از نظر علائم بیماری و پارازیتولوژی مورد بررسی قرار گرفتند.

آزمایش آگلوتیناسیون مستقیم (DAT)

آنتی ژن مورد استفاده در آزمایش DAT در واحد انگل شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران در آزمایشگاه لیشمانیوز تهیه گردید و سپس تا زمان انجام آزمایش در ٤°c نگهداری شد. مراحل تهیه آنتی ژن عبارت بود از تولید انبوه پروماستیگوت‌های لیشمانیا اینفانتوم (سوش ایرانی) در محیط کشت $RPMI_{1640}$ غنی شده با سرم جنین گاوی ۱۰٪، ترپیسینه کردن انگلها، تثبیت با فرم‌آلدئید ۲٪ که در نهایت با رنگ کوماسی بریلیانت بلو رنگ‌آمیزی می‌شود [۲۸،۲۹]. نمونه سرم سگ‌ها با روش DAT طبق پروتکل گفته شده توسط هریت[4] و همکاران آزمایش گردید [۳۰،۳۱]. در آزمایش آگلوتیناسیون مستقیم فرم تاژک دار انگل *لیشمانیا اینفانتوم* در مجاورت رقت‌های مختلف سرم سگ قرار داده می‌شود که در صورت وجود آنتی‌بادی ضد لیشمانیا در سرم سگ پدیده آگلوتیناسیون مشاهده می‌گردد (۳۰). بالاترین رقت از نمونه سرمی که آگلوتیناسیون در آن مشاهده می‌شد به

[1] Case to Case
[2] Descriptive Cross-Sectional
[3] Pilot Study
[4] Harith

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-01-12]

عنوان حداکثر عیار مثبت تست آگلوتیناسیون مستقیم در نظر گرفته شد.

برای غربالگری بیماری، ابتدا دو رقت ۱:۸۰ و ۱:۱۶۰ تهیه و از نظر وجود آنتی‌بادی ضد لیشمانیا مورد بررسی قرار گرفت و در صورت مثبت بودن تا رقت ۱:۲۰۴۸۰ ادامه و مورد بررسی قرار گرفت. در هر سری کاری همراه با نمونه‌های سرم سگ‌ها، ازسرم سگ‌های سالم و منفی از نظر آنتی‌بادی ضد *لیشمانیا*، به عنوان کنترل منفی و سرم سگ‌های مبتلا به لیشمانیوز احشایی و با روش آگلوتیناسیون مستقیم از نظر تیتر آنتی‌بادی ضد لیشمانیا مثبت، به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. در این مطالعه طبق مطالعات پیشین، تیتر آنتی‌بادی مساوی و یا بیش از ۱:۳۲۰ به عنوان نقطه برش[1] برای سگ‌ها، در نظر گرفته شد [۲].

آزمایشات پارازیتولوژی

تعدادی مشخص از سگ‌های علامت دار و فاقد علائم، با بکاربردن تزریقی کتامین هیدروکلراید ۱۰mg/kg کشته شده، سپس کبد و طحال از نظر جسم لیشمن مورد بررسی قرار گرفتند. از کبد و طحال سگ‌ها علاوه بر تهیه اسمیر تماسی روی لام، کشت در محیط‌های منوفازیک و دی فازیک در شرایط آسپتیک بعمل آمد. برای جلوگیری از آلودگی‌های باکتریایی بر روی محیط کشت IU/ml ۲۰۰-۱۰۰ پنی سیلین و 1g/ml استرپتومایسین اضافه گردید. محیط کشت‌ها در ۱۹°c و بمدت ۶-٤ هفته انکوبه شده و به طور هفتگی از نظر وجود پروماستیگوت‌ها بررسی شدند.

اطلاعات جمع‌آوری شده از طریق پرسشنامه و نتایج آزمایشات، ارتباط علائم دار و فاقد علائم با تیتر آنتی‌بادی با استفاده از آزمون کای دو در نرم افزار SPSS-20 مورد بررسی قرار گرفت. $p<۰/۰۵$ مرز معنی‌داربودن اطلاعات در نظر گرفته شد.

محدودیت‌های پژوهش

عدم همکاری صاحبان سگ روستاهای هیپراندمیک مشکین شهر طی بازه زمانی پژوهش. چنانکه همکاری لازم انجام می‌گرفت، مسلماً تعداد نمونه بیشتری گرفته می‌شد و از نظر پارازیتولوژی تعداد سگ‌های بیشتری مورد بررسی قرار میگرفت.

بحث اخلاقی[2] پژوهش

سگ‌های مورد مطالعه در این پژوهش مربوط به پروژه با شماره 241/M/559 دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران بوده و اگرچه برخی از صاحبان سگ از گرفتن خون از سگشان در طی دو سال ممانعت می‌کردند، ولی خونگیری از تعداد مورد بررسی با رضایت صاحبان سگ انجام گرفت. کشتن سگ صرفاً جهت این پژوهش صورت نگرفته است. در مناطق اندمیک سگ مبتلا به کالاآزار بایستی کشته شود و مجوز لازم برای اینکار توسط ایستگاه تحقیقاتی کالاازار در شهرستان مشکین شهر صورت گرفت.

از این آزمون برای مقایسه ارتباط تیتر آنتی‌بادی با سگ علامت دار و فاقد علائم و هچنین با نتایج پارازیتولوژی استفاده شد و نتایج در قسمت بحث آمده است.

یافته‌ها

در این مطالعه ۱۱۰ قلاده سگ مورد بررسی قرار گرفتند. ۸۰ درصد از سگ‌ها نر و ۲۰ درصد ماده بودند. میانگین سنی در سگ‌های علامت‌دار ٤/۷ سال و در سگ‌های فاقد علائم ۳/۹ سال و در کل در میان ۱۱۰ سگ مورد مطالعه ٤/۳ سال بدست آمد. بر اساس علائم بالینی و نتایج سرولوژی ۱۱۰ سگ مورد مطالعه به ۲ گروه سگ‌های علامت دار و فاقد علائم تقسیم شدند. تعداد سگ‌های دارای علائم بالینی ۲٤ قلاده (۲۱/۸٪) بوده که تعداد ۲۰ قلاده از آنها (۸۳/۳٪) با آزمایشDAT از نظر تیتر آنتی‌بادی ضد لیشمانیا مثبت بودند. همچنین تعداد ۸۶ قلاده (۷۸/۱۸٪) فاقد علائم بوده که از این تعداد ۱۶ قلاده

[1] Cut Off

[2] Ethic

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-01-12]

(۱۸/۶٪) از نظر تیتر آنتی‌بادی ضد لیشمانیا مثبت بودند. تعداد ۱۰ قلاده سگ دارای علائم و ۱۵ قلاده سگ فاقد علائم که از نظر آنتی‌بادی ضد لیشمانیا مثبت بودند، از لحاظ اسمیر طحال و کشت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج اسمیر و کشت در سگ‌های دارای علائم بالینی مورد آزمایش ، ۱۰۰ درصد و در سگ‌های فاقد علائم بالینی مورد آزمایش، ۶۰ درصد مثبت نشان داد. ۴۰ درصد از سگ‌های علامت دار که از نظر آزمایشات انگل‌شناسی مثبت بودند، دارای تیتر آنتی‌بادی ضد لیشمانیای کمتر از ۱:۳۲۰ بودند. همچنین در بین سگ‌های فاقد علائم، ۱۳/٤ درصد از موارد مثبت، از نظر انگل‌شناسی، دارای تیتر آنتی‌بادی ضد لیشمانیا به میزان ۱:۱۶۰ بود (جدول ۱).

تمام سگ‌ها در طی چهار دوره خونگیری از نظر آنتی‌بادی ضد لیشمانیا و از نظر علامت دار شدن و یا پیشرفت علائم مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۲).

جدول ۱. آلودگی سگ‌های علامت دار و فاقد علائم بالینی به لیشمانیوز احشایی با آزمایش‌های DAT، اسمیر طحالی و کشت

گروه‌ها	تعداد سگ‌های مورد مطالعه		جنس		میانگین سنی	سگ‌های منفی از لحاظ آزمایش DAT*		سگ‌های مثبت از لحاظ آزمایش DAT*		سگ مثبت از لحاظ آزمایش اسمیرطحالی**		سگ‌های مثبت از لحاظ آزمایش کشت**	
	تعداد	درصد	نر	ماده		تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
سگ‌های علائم دا ر	۲٤	۲۱/۸۱	۱٤	۱۰	٤/۷	٤	۱۶/۶	۲۰	۸۳/۳	۱۰	۱۰۰	۱۰	۱۰۰
سگ‌های فاقد علائم	۸۶	۷۸/۱۸	۷۵	۱۱	۳/۹	۷۰	۸۱/٤	۱۶	۱۸/۶	۹	۶۰	۹	۶۰
مجموع	۱۱۰	۱۰۰	۸۹	۲۱	-	-	-	۳۶	-	۱۹	-	۱۹	-

* بزرگتر یا مساوی ۱:۳۲۰

** از مجموع ۱۰ قلاده سگ علامت دار و ۱۵ قلاده سگ فاقد علائم

جدول ۲. فراوانی نسبی و مطلق تیتر آنتی‌بادی ضد لیشمانیا در سگ‌های واجد و فاقد علائم بالینی

تیتر آنتی‌بادی ضد لیشمانیا	سگ‌های علائم دار		سگ‌های فاقد علائم	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
<۱:۸۰	۰	۰	٤٤	۵۱/۱۶
۱:۸۰	۲	۸/۳۳	۱۶	۱۸/۶۰
۱:۱۶۰	۲	۸/۳۳	۱۰	۱۱/۶۲
۱:۳۲۰	۳	۱۲/۵	٤	٤/۶۲
۱:۶٤۰	۵	۲۰/۸٤	۷	۸/۲۰
۱:۱۲۸۰	۲	۸/۳۳	۵	۵/۸۰
۱ :۲۵۶۰	۳	۱۲/۵	۰	۰
۱:۵۱۲۰	۲	۸/۳۳	۰	۰
۱:۱۰۲٤۰	۲	۸/۳۳	۰	۰
۱:۲۰٤۸۰	۳	۱۲/۵	۰	۰
جمع	۲٤	۱۰۰	۸۶	۱۰۰
* آنتی‌بادی ضد لیشمانیا	۱:٤٤۷۰	-	۱:۱۰۹۰	-

* Geometric mean of reciprocal titer (GMRT) میانگین عیار هندسی آنتی‌بادی ضد لیشمانیا لیشمانیا

در این مطالعه، تعداد ۱۰ قلاده از ۲٤ قلاده (٤۱/۶٪) سگ علائم دار و ۱۵ قلاده از ۸۶ قلاده (۱۷/٤٪) سگ فاقد علائم از نظر آزمایشات پارازیتولوژی مورد ارزیابی قرار گرفتند که نتایج به تفکیک تیتر در جدول ۳ آمده است.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-01-12]

جدول ۳. فراوانی نسبی و مطلق تیتر آنتی‌بادی ضد لیشمانیا برحسب آزمایش‌های اسمیر و کشت از نمونه‌های طحال

	سگ علائم دار						سگ فاقد علائم					
تیتر آنتی	اسمیر			کشت			اسمیر			کشت		
بادی ضد لیشمانیا	تعداد آزمایش شده	موارد مثبت		تعداد آزمایش شده	موارد مثبت		تعداد آزمایش شده	موارد مثبت		تعداد آزمایش شده	موارد مثبت	
		تعداد	درصد		تعداد	درصد		تعداد	درصد		تعداد	درصد
۱:۸۰	۲	۲	۲۰	۲	۲	۲۰	۲	۰	۰	۲	۰	۰
۱:۱۶۰	۲	۲	۲۰	۲	۲	۲۰	۵	۲	۱۳/٤	۵	۲	۱۳/٤
۱:۳۲۰	۱	۱	۱۰	۱	۱	۱۰	٤	۳	۲۰	٤	۳	۲۰
۱:۶٤۰	۳	۳	۳۰	۳	۳	۳۰	۳	۳	۲۰	۳	۳	۲۰
۱:۱۲۸۰	۱	۱	۱۰	۱	۱	۱۰	۱	۱	۶/۶	۱	۱	۶/۶
۱:۲۵۶۰	۱	۱	۱۰	۱	۱	۱۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۱:۵۱۲۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۱:۱۰۲٤۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۱:۲۰٤۸۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
جمع	۱۰	۱۰	۱۰۰	۱۰	۱۰	۱۰۰	۱۵	۹	۶۰	۱۵	۹	۶۰

بحث

لیشمانیوز احشایی سگ (CVL) از مهمترین بیماری‌های مشترک بین انسان و دام است که در مناطق گرمسیری و غیرگرمسیری شایع است و در انسان‌ها و سگ‌ها کشنده است [۳۱]. تظاهرات بالینی سگ‌های عفونی متفاوت و غیراختصاصی است که این موضوع تشخیص را مشکل می‌کند [۳۲]. در مناطقی که لیشمانیوز احشایی زئونوتیک، اندمیک است شیوع عفونت *لیشمانیا اینفانتوم* در سگ‌ها بالا است، در حالی‌که اکثر آنها فاقد علائم هستند [۳۳]. تخمین زده می‌شود که بیشتر از ۵۰ درصد سگ‌های سرم مثبت فاقد علائم هستند [۳٤] .

نقش سگ‌های فاقد علائم بعنوان منبع عفونت در انسان و حیوانات مستعد ناشناخته مانده بود [۱۵] تا اینکه در سال ۲۰۰۹ مشفع و همکاران نشان دادند که سگ‌های فاقد علائم به اندازه سگ‌های علامت دار، در نگهداری انگل *لیشمانیا اینفانتوم* و برقراری چرخه اهلی انتقال انگل در مناطق اندمیک لیشمانیازیس احشایی نقش دارند [۳۵].

همچنین در سال ۱۹۹٤ مولینا[1] و همکاران، تاکید داشتند که بررسی اپیدمیولوژیکی حیوانات آلوده در طی دوره تحت بالینی که هیچ علامت بالینی ندارند ولی قادرند انگل را به ناقلین منتقل کنند، بسیار ضروری است [۳۷]. برای بررسی و غربالگری این حیوانات یک تست سرولوژیکی مورد نیاز است که علاوه بر دارابودن کارایی بالا، در شرایط فیلد هم قابل انجام باشد. طبق مطالعات پیشین DAT روش ساده، قابل دسترس و مطمئن برای تعیین عفونت *لیشمانیا اینفانتوم* در سگ‌ها است [۱۵،۲، ۳۵].

بر اساس مطالعات پیشین در مناطق اندمیک لیشمانیوز احشایی سگ در ایران، ۲٤-۱۳ درصد از سگ‌های آلوده دارای علائم بالینی بوده و تقریباً ۷۵ درصد سگ‌ها فاقد علائم بالینی می‌باشند [۲، ۱۵]. در مطالعه محبعلی و همکاران طی سال‌های ۲۰۰۳-۱۹۹۹، ۱۸/۲ درصد از سگ‌های خانگی شمالغرب کشور شامل استان‌های اردبیل و آذربایجان شرقی از نظر تیتر آنتی‌بادی ضد لیشمانیا مثبت نشان دادند [۲]. در مطالعه مظلومی‌و همکاران، ۲۱/۲ درصد

[1] Molina

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-01-12]

سگ‌ها از نظر تیتر آنتی‌بادی ضد لیشمانیا مثبت نشان دادند [۱]. همچنین در مطالعه مشفع، ۱۷/٤ درصد از سگ‌ها تیتر آنتی‌بادی بالای ۱:۳۲۰۰ داشتند. در این مطالعه ۷٤/٤ درصد از سگ‌های سرم مثبت فاقد علائم بودند [۱۵]. در مطالعه حاضر۱۸/۶ درصد از سگ‌های دارای تیتر آنتی‌بادی مساوی و یا بیش از ۱:۳۲۰ فاقد علامت بودند که با توجه به جمعیت مورد مطالعه در پژوهش حاضر رقم بالایی است و با مطالعه مشفع و همکاران مطابقت داشت.

در مطالعه خان محمدی و همکاران بر روی سگ‌های خانگی در شهرستان سراب از استان آذربایجان شرقی، ۸/۵ درصد از سگ‌ها سرم مثبت نشان دادند [۱۷]. در سال ۲۰۱۱ محمدی قلعه بین و همکاران سگ‌های علائم دار و فاقد علائم را در شهرستان مشکین شهر بررسی کردند. در این مطالعه ۶۰ قلاده سگ بررسی شد که ۳/۳ درصد از سگ‌ها با تست آگلوتیناسیون مستقیم مثبت نشان دادند [۱۰]. در سال ۲۰۱۳ براتی و همکاران میزان لیشمانیازیس احشایی را در سگ‌های خانگی در شهرستان مشکین‌شهر بررسی کردند. در این مطالعه ۲۳/۳ درصد از سگ‌های مورد مطالعه از نظر تیتر آنتی‌بادی ضد لیشمانیا مثبت نشان دادند [۱۸]. درصد سگ‌های سرم مثبت از نظر تیتر آنتی‌بادی ضد لیشمانیا در مطالعه حاضر کمتر از مطالعات فوق بوده است. دلیل این مسئله شاید ناشی از کم بودن جمعیت مورد مطالعه باشد که مطابق با مطالعه محمدی قلعه بین و همکاران است.

از ۱۱۰ سگ مورد بررسی در این مطالعه ۲۱/۸ درصد علامت دار و ما بقی (۷۸/۲٪) فاقد علائم بودند. سگ‌های فاقد علائم در طی مدت زمان دو سال بتدریج علائم دار شده و ارتباط معنی‌داری بین افزایش تیتر آنتی‌بادی و بروز علائم در این سری از سگ‌ها مشاهده گردید، به اینصورت که همزمان با افزایش تیتر آنتی‌بادی، علائم اختصاصی لیشمانیوز در آنها دیده شده است. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، در تیترهای پایین آنتی‌بادی، بروز علائم کمتر بوده و بتدریج با افزایش تیتر آنتی‌بادی صد در صد موارد علائم دار شده‌اند. استثناهایی هم در این مطالعه دیده شد، به این ترتیب که تعدادی از سگ‌ها در طی مدت زمان چهار دوره‌ای هیچ افزایشی در تیتر آنتی‌بادی نشان نداده ولی بتدریج علامت دار شدند. تعدادی از این سگ‌ها در آزمایشات پارازیتولوژی مثبت بودند که این موضوع از نظر انتقال انگل بسیار مهم می‌باشد. بنابراین داشتن تیتر پایین آنتی‌بادی دلیلی بر سالم بودن سگ‌ها نمی‌باشد. ۱۸/۶ درصد از سگ‌های دارای تیتر آنتی‌بادی مساوی و یا بیش از ۱:۳۲۰ فاقد علامت بودند که با توجه به جمعیت مورد مطالعه در پژوهش حاضر رقم بالایی است. این نتایج هم با دیگر مطالعات تاحدودی همخوانی داشت [۷،۱۰،۱۵].

طبق نتایج این مطالعه، ارتباط معنی‌داری بین تیتر آنتی‌بادی ضد لیشمانیا و نتایج پارازیتولوژی دیده نشد. ٤۰ درصد سگ‌های علامت دار و پارازیتولوژی مثبت، دارای تیتر آنتی‌بادی ۱:۸۰ و ۱:۱۶۰ بودند که این تیترها معمولاً منفی تلقی می‌شوند. این مطلب از نظر اپیدمیولوژی بسیار چشمگیر و با اهمیت است. همچنین ۱۳/٤ درصد سگ‌های فاقد علائم پارازیتولوژی مثبت، دارای تیتر آنتی‌بادی ۱:۱۶۰ بودند که علیرغم نداشتن علائم و نداشتن آنتی‌بادی، از لحاظ اپیدمیولوژی موارد مهمی‌محسوب می‌شوند و بعلت وجود انگل در بدن آنها از نظر انتقال بیماری باید مورد توجه قرار گیرند.

این مطالعه همچنین نشان داد در تعدادی از سگ‌ها با وجود علامت دار شدن، تیتر آنتی‌بادی ضد لیشمانیا همچنان پایین باقی ماند که در چنین مواردی انجام آزمایش‌های تکمیلی برای اثبات وجود انگل در بدن حیوان ضروری بنظر می‌رسد.

انجام مطالعات پارازیتولوژیک از جمله تهیه اسمیر و کشت از احشاءِ داخلی این حیوانات ثابت کرد که سگ‌های فاقد علائم هم می‌توانند آلوده به انگل

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-01-12]

لیشمانیا بوده و به اندازه سگ‌های علامت دار در انتقال بیماری مهم باشند. در این مطالعه ۶۰ درصد از سگ‌های فاقد علائم از نظر پارازیتولوژی مثبت بودند که با مطالعات مشفع و همکاران همخوانی داشت [۳۶] .

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که سگ‌های فاقد علائم، همانند سگ‌های علامت دار قادر به نگهداری عفونت *لیشمانیا* بوده و در برقراری چرخه بیماری در مناطق اندمیک نقش دارند. همچنین سگ‌های سرم مثبت فاقد علائم، به مرور زمان علامتار شده و از نظر پارازیتولوژی نتایج بهتری نشان دادند.

این مطالعه، همچنین نشان داد که هرچند تست سرولوژیکی DAT در تشخیص سگ‌های بدون علامت موثر بوده و در اجرای برنامه‌های کنترل لیشمانیوز احشایی بسیار موثر است، ولی با یکبار انجام آزمایش آگلوتیناسیون مستقیم نمی‌توان سالم بودن سگ را تایید کرد و در مناطق اندمیک بایستی تیتر آنتی‌بادی با مقادیر بسیار کم نیز مورد توجه قرار گیرد و طی بازه زمانی حداقل یکساله مورد بررسی قرار گیرد و یا از دیگر تست‌های تشخیصی جهت اطمینان استفاده شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی ایستگاه تحقیقاتی لیشمانیوز در شهرستان مشکین شهر وابسته به دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران، طی سالهای ۹۳-۹۱ انجام گرفته است که بدینوسیله از مسئولین و کارکنان آن مرکز قدردانی می گردد.

References

1- Desjeux P. Leishmaniasis: Current situation and new perspectives. Comp immunol Microbiol Infect Dis. 2004 Sep; 27(5): 305-318.

2- Mohebali 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. Vet Parasitol. 2005 May; 129:243-51.

3- Fakhar M, Rahmati B, Gohardehi S, Mohebali M, Akhoundi B, Sharif M, et al. Molecular seroepidemiological survey of visceral leishmaniasis among humans and domestic dogs in Mazandaran province, North of Iran. Iran J parasitol. 2011 Dec; 6(4): 51-59.

4- Edrissian GH, Hafizi A, Afshari A, Soleiman zadeh G, Movahed Danesh AM, Garoussi A. An endemic focus of visceral leishmaniasis in meshkin-shahr, East Azarbaijan province, north – west part of Iran and IFA serological survey of the disease in this area. Bull soc pathol Exot filiales. 1988; 81(2): 238-248.

5- Moreno J, Alvar J. Canine leishmaniasis: Epidemiological risk and the experimental model. Trend parasitol. 2002 Sep; 18(9): 399-405.

6- Cortes s, Vaz Y, Neves R, Maia C, Cardoso L, Campino L. Risk factors for canine leishmaniasis in an endemic Mediterranean region. Vet parasitol. 2012 Oct; 189(2-4):189-96.

7- Bokaie S, Mobedi I, Edrissian G, Nadim A. Seroepidmiological study of canine visceral leishmaniasis in Meshkin shahr, Northwest of Iran. Arch Razi Inst. 1998; 48 (49): 41-46.

8- Quinnell RJ, Courtenay O, Garcez L, Dye C. The epidemiology of canine leishmaniasis: Transmission rates estimated form a cohort study in Amazonian Brazil. Parasitology .1997 Aug; 115(2):143–156.

9-Tagizade TA, Gasanzade GB, Safyanova VM, Shalmiev GB, Gadzibekova EA, Savina MA. Visceral leishmaniasis in the Ordubad District of the Nakhichevan ASSR. Med Parasitol (Mosk) .1989 May-Jun; 3: 22–27. (Full text in Russian)

10- Mohammadi-Ghalehbin b, Hatam GhR, Sarkari B, Mohebali M, Zarei Z, Jaberipour M, et al . *Leishmania infantum* FML-ELISA for the detection of symptomatic and asymptomatic canine visceral leishmaniasis in an endemic area of Iran. Iran J Immunol. 2011 Dec; 8(4):244-250.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-01-12]

11- Gavgani-Mazloomi S, Mohit H, Edrissian GH, Mohebali M, Davies CR. Domestic dog ownership in Iran is a factor for human infection with *Leishmania infantum*. Am J Trop Med Hyg. 2002 Nov; 67(5): 511-515.
12- Neligan A. Canine Leishmaniasis. J Trop Med Hyg. 1913; 16:156.
13- Hosseininejad M, Mohebali M, Hosseini F, Karimi S, Sharifzad S, Akhoundi B. Seroprevalence of canine visceral leishmaniasis in asymptomatic dogs in Iran. Iranian J Vet Res. 2012 Mar ; 13(1): 54-58.
14- Mohebali M, Hamzavi Y, Fallah E, Zarei Z. Study of canine visceral leishmaniasis in some parts of Islamic Republic of Iran and its health importance. J Vet Res. 2001 Nov; 56(3): 55-60.(Full Text in Persian).
15- Moshfe A, Mohebali M, Edrissian GH, Zarei Z, Akhoundi B, Kazemi B, et al. Seroepidmiological study on canine visceral leishmaniasis in Meshkin shahr district, Ardabil province, Northwest of Iran during 2006-2007. Iran J Parasitol .2008 Agu; 3(3): 1-10.
16- Khanmohammadi M, sadaghian M, babaey neghad F, Zakaria M. Study on seroprevalence of visceral Leishmaniasis in stray dogs of Marand (East Azerbaijan) with indirect immunofluorescence antibody test (IFAT) and its health importance in 2007-2008. Internet J Parasitic Dis. 2008; 4(1):1-4.
17- Khanmohammadi M, Fallah E, Rahbari S, Sohrabi I, Farshchian M, Hamzavi F, et al. Study on Seroprevalence of Canine Visceral Leishmaniasis (CVL) in Ownership Dogs of Sarab, East Azerbaijan, Province, Northwest of Iran with Indirect Immuno Fluorescence Antibody Test (IFAT) and its Health Importance in 2008-2009. J animal and vet advances. 2010;9(1):139-143.
18- Barati M, Mohebali M, Alimohammadian MH, Khamesipour A, Akhoundi B, Zarei Z. Canine visceral leishmaniasis: Sero prevalence survey of asymptomatic dogs in an endemic area of northwestern Iran. J Parasit Dis. 2015 Apr-Jun; 39(2): 221-224.
19- Reiner Sh, Locksley RM. The regulation of immunity to Leishmania major. Ann Rev Immunol.1995 Apr; 13: 151-177.
20- Tesh RB. Control of zoonotic visceral leishmaniasis: Is it time to change strategies?. Am J Med Hyg. 1995 Mar; 52(3): 287-292.
21-Portus M, Sisa R, Serra T, Gallego M, Mora M. Seroepidemiological study of canine leishmaniasis in Catalonia (Spain). Vet Med.1987 Mar; 4:569-575
22- Sideris V, Papadopoulon G, Dotsika E, Karagouni E. Asymptomatic canine leishmaniasis in Greater Athens area, Greece. Eur J Epidmiol. 1999 Mar; 15: 271-276.
23- Kalayou S, Tadelle H, Bsrat A, Abede N, Haileselassie M, Schallig HD. Seroepidmiological evidence of *Leishmania donovani* infection in apparently healthy dogs using direct agglutination test (DAT) and rk_{39} dipstick tests in kafta Humera,north west Ethiopia. Transbound Emerg Dis. 2011 Mar; 58(3): 255-262.
24- Teran- Angle G, Schallig H, Zerpa- Rodriguez V, Ulrich M, Cabreva M. The direct agglutination test as an alternative method for the diagnosis of canine and human visceral Leishmaniasis. Biomedica. 2007 Sep; 27(3): 447-453.
25- Sunder S, Reed SG, Singh VP, Kumar PC, Murray HW. Rapid accurate field diagnosis of Indian visceral leishmaniasis. Lancet. 1998 Feb; 371(9102): 563-565.
26- Mohebali M, Edrissian GH, Shirzadi MR, Akhoundi B, Hajjarian 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. TAMID. 2011 Mar; 9(2): 67-74.
27- da Silva DA, Madeira Mde F, Abrantes TR, Filho CJ, fiqueiredo FB. Assessment of serological tests for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. Vet J. 2013 Feb; 195(2): 252-3.
28- Harith AE, Kolk AH, Kager PA, Leeuwenberg J, Muogai R, Kiugu S, et al. A simple and economical direct agglutination test for serodiagnosis and seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis. Trans R soc Trop med Hyg. 1986; 80(4): 536-583.
29- Harith A, Salappendel RJ, Reifer I, Knapen F, Korte P, Huigen E, et al. Application of a direct agglutination test for detection of specific anti-Leishmania antibodies in the canine reservoir. J clin Microbiol. 1989 Oct; 27(10): 2252-2257.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-01-12]

30- Molaie S, Mohebali M, Akhoundi B, Zarei Z. Evaluation of latex agglutination test(Katex®) in dignosis of leishmania antigenes in urine of visceral leishmaniasis patients. jtums. 2015 Nov; 4(1):1-8. (Full Text in Persian)
31- Baneth G, Koutinas AF, Solano G, Bourdeaup F. Canine Leishmaniasis – new aspects and insights on an expanding zoonosis: part one. Trends parasitol. 2008 Jul; 24(7): 324-330.
32- Ferreira Ede C, de Lana M, Carneiro M, Reis AB, Paes DV, da Silva ES, et al. Comparison of serological assays for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in animals presenting different clinical manifestations. Vet parasitol. 2007 May 31; 146 (34): 235-241.
33- Dantas-torres F, de Brito ME, Brandao-Filho SP. Seroepidemiologial survey on canine Leishmaniasis among dogs from an urban area of Brazil. Vet parasitol. 2006 Aug 31; 40: 54-60.
34- Gradoni L, Pozio E, Bettini S, Gramiccia M. Leishmaniasis in Tuscany, III. The prevalence of canin Leishmaniasis in two foci of Groseto provice. Trans R soc Trop Med. 1980; 144: 234-241.
35- Moshfe A, Mohebali M, Edrissian GH, Zarei Z, Akhoundi B, Jamshidi SH, et al. Canine leishmaniasis: Asymptomatic infected dogs as a source of infantum infection. Acta Trop. 2009 Nov; 112(2): 101-105.
36 -Molina R, Amela C, Nieto J, San-Andres M, Gonzalez F, Castillo JA, et al. Infectivity of dogs naturally infected with *Leishmania infantum* to colonized *Phlebotomus perniciosus*. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1994 Jul-Aug; 88(4): 491-3.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2025-01-12]