

New Epidemiological Feature of Cutaneous Leishmaniasis in an Endemic Focus in Golestan Province

Yousef Moghaddam¹, Hajar Ziaei Hezarjaribi², Mahdi Fakhar³, Abdol Sattar Pagheh⁴, Reza Saberi⁵, Eisa Nazar⁶, Mitra Sharbatkhori⁷, Hossein.ghalehnoei⁸

1. Ph.D. Candidate in Parasitology, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. ORCID ID: 0000-0003-3220-3091

2. Assistant professor, Pediatric infectious Disease Research Center, Communicable Disease Institute, Department of Parasitology School of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran., (Corresponding Author), Tel: +98-33543248, Email: ziaei2000@yahoo.com, ORCID ID: 0000-0003-3774-3100

3. Professor, Toxoplasmosis Research Center, Communicable Diseases Institute, Iranian National Registry Center for Lophomoniasis and Toxoplasmosis, Department of Parasitology, School of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. ORCID ID: 0000-0002-4690-6938

4. Assistant Professor, Infectious Diseases Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran. ORCID ID: 0000-0002-1234-6127

5. Ph.D. Candidate in Parasitology, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. ORCID ID: 0000-0002-1496-4148

6. Ph.D. Candidate in Biostatistics, Student Research Committee, Department of Biostatistics, School of Health, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran. ORCID ID: 0000-0002-2860-6034.

7. Associate Professor, Laboratory Sciences Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ORCID ID: 0000-0002-1896-9317

8. Assistant Professor of Molecular Medicine Department of Medical Biotechnology, School of Advanced Technologies in Medicine Molecular and Cell Biology Research Center, Sari, Mazandaran, Iran. ORCID ID: 0000-0002-1963-3110

ABSTRACT

Background and Aim: Cutaneous leishmaniasis (CL) is an important health problem in Iran and one of the world's neglected diseases which is caused by *Leishmania* spp. The aim of this study was to investigate the epidemiology of cutaneous leishmaniasis and its associated risk factors in an endemic center in Golestan Province.

Materials and Methods: This descriptive cross-sectional study included patients with suspected CL who had been referring to the health centers of Gonbad-e Qabus town, between 2018 and 2020. Demographic and epidemiological data of CL patients were recorded and diagnosis of *Leishmania* spp. was made by Giemsa staining of direct smear. PCR was also used to determine and confirm the parasite species.

Results: From 1979 suspected CL lesions, 1704(87.4%) had positive smears. 898 (52.7%) patients were male and 806 (47.3%) were female. The highest incidence rate was observed in the patients of less than 5 (25.93%) and those between 25 and 45 years of age (25.41%). In all samples in this study, *Leishmania major* was the only *Leishmania* spp detected by ITS-PCR. Also, *Critidia fasciulata* was identified in three patients.

Conclusion: The study provided valuable data concerning the epidemiologic aspects of the CL in an old endemic focus in north of Iran, which can be used as the basis for planning future control strategies.

Keywords: Cutaneous leishmaniasis, Epidemiology, PCR, *Crithidia*, Gonbad-e Qabus

Received: Feb 7, 2021

Accepted: Sep 1, 2021

How to cite the article: Yousef Moghaddam, Hajar Ziaei Hezarjaribi, Mahdi Fakhar, Abdol Sattar Pagheh, Reza Saberi, Eisa Nazar, Mitra Sharbatkhori, Hossein.ghalehnoei. New Epidemiological Feature of Cutaneous Leishmaniasis in an Endemic Focus in Golestan Province. SJKU 2022;27(3):77-88.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

سیمای جدید اپیدمیولوژی بیماری لیشمانیوز پوستی در یک کانون آندمیک در استان گلستان

یوسف مقدم^۱، هاجر ضیایی هزار جریبی^۲، مهدی فخار^۳، عبدالستار پقه^۴، رضا صابری^۵، عیسی نظر^۶، میترا شربت خوری^۷، حسین قلعه نویی^۸

۱. دانشجوی دکتری انگل شناسی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. کد ارکید: ۳۰۹۱-۳۲۲۰-۰۰۰۳-۰۰۰۰
۲. دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی کودکان، انستیتوی بیماری‌های واگیر، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران (نویسنده مسئول)، پست الکترونیک: ziaei2000@yahoo.com، تلفن: ۰۱۱۳۳۵۴۳۲۴۸، کد ارکید: ۳۱۰۰-۳۷۷۴-۰۰۰۳-۰۰۰۰
۳. استاد گروه انگل شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات توکسوپلاسموز، پژوهشکده بیماری‌های واگیر، مرکز ثبت ملی لوفومونیاویس و توکسوپلاسموز، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. کد ارکید: ۶۹۳۸-۴۶۹۰-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۴. استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران. کد ارکید: ۶۱۲۷-۱۲۳۴-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۵. دانشجوی دکتری انگل شناسی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. کد ارکید: ۴۱۴۸-۱۴۹۶-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۶. دانشجوی دکتری آمار زیستی، کمیته تحقیقات دانشجویی، گروه آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. کد ارکید: ۶۰۳۴-۲۸۶۰-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۷. دانشیار مرکز تحقیقات علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. کد ارکید: ۹۳۱۷-۱۸۹۶-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۸. استادیار گروه زیست فناوری پزشکی، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی ساری، مازندران، ایران. کد ارکید: ۳۱۱۰-۱۹۶۳-۰۰۰۲-۰۰۰۰

چکیده

زمینه و هدف: لیشمانیوز پوستی (CL)، به عنوان یک مشکل بهداشتی مهم در ایران و یکی از بیماری‌های فراموش شده در جهان است که توسط گونه‌های لیشمانیا ایجاد می‌گردد. هدف از این مطالعه بررسی اپیدمیولوژی بیماری لیشمانیوز پوستی و فاکتورهای خطر مرتبط با آن در یک کانون آندمیک در استان گلستان است.

مواد و روش‌ها: مطالعه حاضر از نوع مقطعی - تحلیلی بوده و بر روی بیماران مشکوک به لیشمانیوز پوستی مراجعه کننده به مرکز لیشمانیوز پوستی شهرستان گنبد کاووس در طی سال‌های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ انجام گرفت و تمام اطلاعات دموگرافیک و اپیدمیولوژیک بیماران ثبت گردید. حضور انگل لیشمانیا با تهیه گسترش مستقیم از ضایعات پوستی و رنگ آمیزی گیمسا انجام گرفت. همچنین از روش PCR جهت تعیین گونه انگل استفاده شد.

یافته‌ها: از ۱۹۷۹ ضایعه مشکوک به لیشمانیوز پوستی، ۱۷۰۴ (۸۷/۴ درصد) مورد مثبت بودند. از نظر جنسیت، ۸۹۸ (۵۲/۷ درصد) نفر از مبتلایان مرد و ۸۰۶ (۴۷/۳ درصد) نفر زن بودند. بیشترین موارد ابتلا در گروه‌های سنی کمتر از ۵ سال (۲۵/۹۳ درصد) و ۴۵-۲۵ سال (۲۵/۴۱ درصد) مشاهده شد. در این مطالعه با استفاده از روش PCR-ITS، گونه انگل‌های لیشمانیا در تمام نمونه‌های مورد بررسی، لیشمانیا ماژور بود. همچنین سه مورد کربتیدیا فاسیکولاتا در بیماران گزارش گردید.

نتیجه‌گیری: این بررسی اطلاعات ارزشمندی در مورد جنبه‌های اپیدمیولوژیک لیشمانیوز پوستی در یک کانون بومی قدیمی در شمال ایران ارائه داده است که می‌تواند پایه‌ای برای استراتژی‌های کنترل بیماری در آینده باشد.

کلمات کلیدی: لیشمانیوز پوستی، اپیدمیولوژی، PCR، کربتیدیا، گنبد کاووس

وصول مقاله: ۱۹/۱۱/۹۹ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۰/۴/۲۲ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۱۰

بیماری لیشمانیوز یکی از بیماری‌های مشترک بین انسان و حیوان است که عامل آن انگل تک یاخته داخل سلولی از

مقدمه

های کریتیدیا در بیماران مشکوک به لیشمانیوز پوستی گزارش شده است. کریتیدیا از کلاس کیتوپلاستیدا و راسته تریپانوزوماتیدا بوده که دارای ۱۹ جنس بوده و جنس‌های *C. luciliae* و *C. fasciculata* تاکنون بیماران مبتلا را به صورت تک و یا توأم آلوده کرده است. انگل از طریق حشرات منتقل می‌شود و در مجرای گوارشی آن‌ها تکامل می‌یابد. گزارش‌هایی از ابتلای انسان به گونه‌های کریتیدیا دیده شده است. مورد اول مردی از اهالی جزیره مارتینیک (*Martinique*) مشاهده شد که در ابتدا بیماری وی لیشمانیازیس جلدی منتشر تشخیص داده شد؛ اما بررسی‌های بیوشیمیایی و نیز مشاهده آماستیگوت‌ها در ضایعات جلدی با میکروسکوپ الکترونی و همچنین پروماستیگوت‌ها در محیط کشت نشان داد که عامل بیماری او تریپانوزوماتیده مونوگزوز (یک میزبان) و متعلق به حشرات بوده است. بیمار دوم، خانم میان‌سال ساکن کشور اسپانیا بود که بر اساس یافته‌های بالینی و آزمایشگاهی، مشکوک به داشتن لیشمانیازیس احشایی بود. انگل‌های جدا شده از آسیب‌ریز مغز استخوان و تجزیه ایزوآنزیمی و هیبریداسیون DNA ی پروماستیگوت‌های محیط کشت، تشخیص را مردود دانست. تنها این نکته قابل تبیین بود که انگل جدا شده منشأ غیر انسانی دارد و احتمالاً متعلق به تریپانوزوماتیدهای پست حشرات می‌باشد (۱۱).

میزان بروز لیشمانیوز جلدی در یک منطقه عمدتاً به دلیل تغییرات محیطی، رفتارهای فردی، مهاجرت، بلایای طبیعی و مقاومت در برابر داروها همواره دستخوش تغییر می‌گردد؛ بنابراین انجام مطالعات در خصوص شناسایی عوامل تأثیرگذار در شیوع این بیماری، امری ضروری است. مطالعات اپیدمیولوژیک می‌تواند نقش مهمی در پیشگیری، کنترل و برنامه‌های بهداشتی در کانون‌های اندمیک بیماری داشته باشد. در طی سال‌های گذشته مطالعات متعددی در زمینه اپیدمیولوژی لیشمانیوز جلدی در مناطق مختلف ایران صورت گرفته است (۱۴، ۱۲). در مطالعه‌ای که جرجانی و همکاران (۱۳۹۷) بر روی اپیدمیولوژی لیشمانیوز جلدی در استان گلستان انجام دادند بیشترین موارد ابتلا به بیماری در

خانواده تریپانوزوماتیده و جنس لیشمانیا است. این بیماری به سه شکل جلدی (سالک)، احشایی (کالازار) و جلدی-مخاطی دیده می‌شود (۱). لیشمانیوز پوستی در ایران به‌عنوان یک معضل بزرگ بهداشتی مطرح است و هر ساله تعداد زیادی بیمار به مراکز بهداشتی و درمانی جهت تشخیص و درمان مراجعه می‌کنند (۳، ۲). به علت اهمیت زیاد این بیماری، سازمان بهداشت جهانی (WHO) لیشمانیوز را جزء شش بیماری مهم مناطق گرمسیری دنیا معرفی کرده و در گروه «بیماری‌های مهم و کنترل نشده» در سال ۲۰۰۲ قرار داده است (۴). بر اساس آخرین اطلاعات سازمان بهداشت جهانی حدود ۱۲ میلیون نفر از مردم جهان به این انگل آلوده می‌باشند و ۳۵۰ میلیون نفر در معرض خطر ابتلا به آن قرار دارند. لیشمانیوز پوستی در ۸۲ کشور جهان اندمیک بوده و حدود ۹۰ درصد موارد این بیماری از کشورهای افغانستان، پاکستان، عربستان، ترکیه، ایران، سوریه، الجزایر، برزیل و پرو گزارش می‌شود که از دلایل آن وجود شرایط مناسب رشد و تکثیر ناقلین و مخازن این بیماری در مناطق مذکور می‌باشد (۵، ۴).

لیشمانیوز پوستی در ایران، یکی از شایع‌ترین و مهم‌ترین بیماری‌های انگلی محسوب می‌شود (۶). ناقل بیماری لیشمانیوز پوستی، پشه‌های خاکی از جنس فلبوتوموس می‌باشند. وجود این ناقلین انگل و مخازن آن‌ها باعث شده است تا کانون‌های بیماری در حال افزایش باشند (۷). مخازن این بیماری اغلب چونندگان می‌باشند که گونه‌های مختلف چونندگان دم‌جارویی زیر خانواده *Gerbillinae* به‌عنوان میزبانان مخزن (*Reservoirhosts*) عمل می‌نمایند که در جاهایی که ناقلین بیماری (پشه‌های خاکی) حضور داشته باشند قادر به نگهداری انگل و برقراری چرخه بیماری می‌باشند (۹، ۸). در شهرستان گنبد کاووس، ژربیل‌های بزرگ مانند *Rhombomysopimus* و *Merioneslibycus* از مهم‌ترین مخازن بیماری محسوب می‌شوند (۱۰).

اخیراً مواردی از ابتلا به تریپانوزوماتیدهای غیر انسانی (*Nonhuman trypanosomatids*) از جمله گونه

طی سال‌های ۱۳۹۳ تا ۱۳۹۶ گزارش شد. همچنین بیشترین موارد ابتلا در ماه‌های آبان (۳۸۱۶ مورد) و آذر (۲۸۳۲ مورد) بوده است (۱۵). در یک مطالعه مروری توسط شریفی و همکاران (۱۳۹۳)، شیوع لیشرمانیوز پوستی در استان کرمان در طی ۲۶ سال مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج این مطالعه، بیشترین موارد گزارش شده لیشرمانیوز پوستی، به ترتیب در شهر بم، شهر کرمان و سپس سایر نواحی استان بوده است. همچنین عامل ۹۵/۵ درصد از بیماری لیشرمانیوز پوستی در این استان، لیشرمانیا تروپیکا و ۴/۵ درصد لیشرمانیا مائور گزارش شده است (۱۶).

شهرستان گنبد کاووس در شمال شرقی کشور و در استان گلستان واقع شده است و از جمله کانون‌های قدیمی نوع لیشرمانیوز پوستی به شمار می‌رود و سالیانه موارد زیادی از این بیماری در این منطقه گزارش می‌شود. آخرین طغیان ناگهانی در شیوع بیماری لیشرمانیوز پوستی در منطقه گنبد کاووس در طی سال‌های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ رخ داد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اپیدمیولوژی بیماری لیشرمانیوز پوستی و فاکتورهای خطر مرتبط با آن در طی سال‌های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ در شهرستان گنبد کاووس، به عنوان یک کانون آندمیک در استان گلستان انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از فروردین ماه ۱۳۹۷ تا اسفند ۱۳۹۸ بر روی افراد مشکوک به لیشرمانیوز پوستی، مراجعه کننده به مرکز بهداشت شهرستان گنبد کاووس انجام شد. نمونه‌گیری از بیماران پس از دریافت کد اخلاق از دانشگاه علوم پزشکی مازندران و رضایت آگاهانه از بیماران آغاز شد. در ابتدا پرسشنامه‌ای شامل مشخصات دموگرافیک و بالینی بیماران از جمله سن، جنسیت، محل سکونت، ملیت، شغل، مکان زخم، روش درمان، تعداد زخم و دوره زخم برای هر بیمار تکمیل گردید. نمونه‌گیری از حاشیه زخم و با استفاده از تیغ بیستوری یا واکسینواستیل انجام شد. از زخم هر بیمار، دو عدد گسترش نازک تهیه و پس از فیکس کردن با متانول خالص (Merk, Germany) با استفاده از گیمسا (Sigma Aldrich) رنگ آمیزی شد.

USA) رنگ آمیزی صورت گرفت. گسترش‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری و بزرگ‌نمایی ۴۰۰X و ۱۰۰۰X مورد بررسی قرار گرفتند و در صورت مشاهده اجسام لیشرمان داخل و خارج سلولی، لیشرمانیوز پوستی تأیید شد. سپس در مرحله بعد، گسترش‌های مثبت، جهت استخراج DNA به روش فنل کلروفرم جدا شدند. قطعات مورد نظر با روش مولکولی PCR و با استفاده از پرایمرهای ITS (ITS forward, LITSR L5.8S و 5'-CTGGATCATTTTCCGATG) و (Reverse, 5'-TGATACCACTTATCGCACTT) تکثیر شدند. سیکل دمایی ترموسایکلر شامل مرحله دناتوراسیون به مدت ۲ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ سیکل شامل دناتوراسیون به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، آنیلینگ به مدت ۹۰ ثانیه در دمای ۶۲ درجه سانتی‌گراد و پلی‌میریزاسیون به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد بود و محصول PCR با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد تفکیک شد و با توجه به شاخص وزنی (Ladder)، گونه انگل تعیین شد (۱۷). در گونه لیشرمانیا باند حاصل از PCR با ژن ITS1 در ناحیه 350bp دیده شد. در صورتی که باند حاصل از کزیتیدیا در 500bp دیده شد. جهت تأیید نهایی، نمونه‌های مشکوک به کزیتیدیا، تعیین توالی شدند (تصویر ۲).

جهت ارائه آمار توصیفی از داده‌های جمع‌آوری شده، میانگین و انحراف معیار برای متغیرهای کمی و فراوانی (درصد) برای متغیرهای کیفی گزارش گردید. برای ارزیابی توزیع یکنواخت بیماران تحت مطالعه در سطوح متغیرهای کیفی از آزمون نیکویی برازش کی دو استفاده شد تمامی تحلیل‌ها در نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ انجام گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه از بین ۱۹۷۹ بیماری که در طی سال‌های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ به مرکز بهداشت شهرستان گنبد کاووس مراجعه نموده بودند و زخم مشکوک به لیشرمانیا داشتند

درصد فراوانی لیثمانیوز جلدی برحسب موارد مثبت ثبت شده در مرکز بهداشت شهرستان گنبد کاووس به تفکیک ماه های سال نشان می دهد و بیشترین موارد مثبت در آبان ماه با گزارش ۵۷۸ (۳۳/۹ درصد) بیمار به دست آمد. از لحاظ فصلی، ۲۱ (۱/۲ درصد) مورد در فصل بهار، ۱۱۷ (۶/۹ درصد) بیمار در فصل تابستان، ۱۳۴۹ (۷۹/۲ درصد) مورد در فصل پاییز و ۲۱۷ (۱۲/۷ درصد) مورد مثبت نیز در فصل زمستان گزارش شده بود. همچنین در این مطالعه با استفاده از روش مولکولی اختصاصی، گونه انگل های لیثمانیا در تمام نمونه های مورد بررسی، در مقایسه با گونه های مرجع، لیثمانیا، کریتیدیا فاسیکولاتا گزارش شد. همچنین نمونه هایی که گونه کریتیدیا فاسیکولاتا گزارش شدند با تعیین توالی نیز مورد تایید قرار گرفتند (ACMW115884, ACMT674944, AC MT674945 کد های ثبت شده در ژن بانک) (شکل ۲).

۱۷۰۴ (۸۷/۴ درصد) نفر از نظر وجود آماستیگوت در نمونه زخم مثبت و ۲۷۵ (۱۲/۶ درصد) بیمار نیز منفی بودند. میانگین سنی بیماران مبتلا در طی دوره تحت مطالعه، $19/39 \pm 22/44$ سال (دامنه تغییرات: ۸۸ سال) بود. همچنین حداقل و حداکثر تعداد زخم در بین بیماران مراجعه کننده به ترتیب ۱ و ۲۸ زخم بوده و میانگین تعداد زخم $2/79 \pm 2/66$ (دامنه تغییرات: ۲۷ زخم) به دست آمد و میانگین دوره زخم بیماران نیز $6/08 \pm 5/73$ هفته (دامنه تغییرات: ۱۰۹ هفته) بوده است. از مجموع بیماران، ۸۹۸ (۵۲/۷ درصد) نفر از موارد مثبت مرد و ۸۰۶ (۴۷/۳ درصد) مورد نیز زن بودند و موارد مثبت بین مردان و زنان به طور یکنواخت توزیع نشده اند و بر اساس آزمون نیکویی برازش کی دو از نظر آماری تفاوت معنی داری در توزیع یکنواخت بیماران بین مردان و زنان وجود دارد ($P < 0/05$) (جدول ۱). بیشترین و کمترین تعداد بیمار به ترتیب در گروه های سنی کمتر از ۵ سال با ۴۴۲ (۲۵/۹۰ درصد) بیمار و ۱۵-۲۵ سال با ۲۳۴ (۱۳/۷۰ درصد) بیمار مشاهده شد و موارد مثبت در گروه های سنی مختلف به طور یکسان و یکنواخت توزیع نشده اند و نتایج حاصل از آزمون نیکویی برازش کی دو نشان داد که از نظر آماری تفاوت معنی داری در توزیع یکنواخت بیماران بین گروه های سنی مختلف وجود دارد ($P < 0/05$). محل سکونت اکثر بیماران تحت بررسی، روستا بود و طبق نتایج حاصل از آزمون نیکویی برازش کی دو، تفاوت معنی داری در توزیع یکنواخت بیماران برحسب محل سکونت وجود دارد ($P < 0/05$). همچنین بر اساس نتایج حاصل از آزمون نیکویی برازش کی دو، بیماران در بین سطوح مختلف متغیرهای ملیت، شغل، مکان زخم، روش درمان، تعداد زخم و دوره زخم نیز به طور یکنواخت و به نسبت یکسان توزیع نشده اند و در توزیع فراوانی بیماران بین سطوح مختلف متغیرها تفاوت معنی داری از نظر آماری وجود دارد ($P < 0/05$). مشخصات دموگرافیک و بالینی بیماران در جداول ۱ و ۲ ارائه شده است. میزان پراکندگی موارد مثبت بیماری لیثمانیوز پوستی در شهرستان گنبد کاووس در شکل ۱ نشان داده شده است. نمودار ۱ نیز

جدول ۱. توزیع فراوانی بیماران تحت بررسی بر حسب متغیرهای سن، جنسیت، شغل، ملیت و محل سکونت

نتیجه آزمون	فراوانی (درصد)	متغیر
$P < 0.001$	۴۴۲ (۲۵/۹۴)	سن
	۳۵۱ (۲۰/۶۰)	۵ <
	۲۳۴ (۱۳/۷۳)	۵-۱۵
	۴۳۳ (۲۵/۴۱)	۱۵-۲۵
	۲۴۴ (۱۴/۳۲)	۲۵-۴۵
		۴۵ >
$P = 0.026$	۸۰۶ (۴۷/۳۰)	جنسیت
	۸۹۸ (۵۲/۷۰)	زن مرد
$P < 0.001$	۱۲ (۰/۷)	ملیت
	۱۶۹۲ (۹۹/۳)	غیر ایرانی ایرانی
$P < 0.001$	۲۹۶ (۱۷/۴)	محل سکونت
	۱۴۰۸ (۸۲/۶)	شهر روستا
$P < 0.001$	۶۳ (۳/۷)	شغل
	۴۶۸ (۲۷/۵)	کارمند
	۳۴۷ (۲۰/۴)	کودک
	۱۳۵ (۷/۹)	محصل
	۱۳۰ (۷/۶)	کارگر
	۴۰۴ (۲۳/۷)	کشاورز/ دامدار خانه‌دار
	۱۵۷ (۹/۲)	سایر مشاغل

و انحراف معیار ± میانگین گزارش

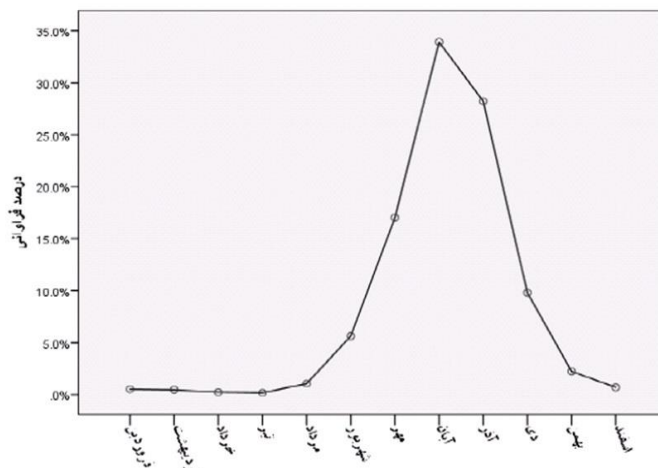
مقادیر به صورت فراوانی (درصد) شده اند.

جدول ۲. توزیع فراوانی بیماران تحت بررسی بر حسب متغیرهای مکان زخم، روش درمان، تعداد زخم و دوره زخم

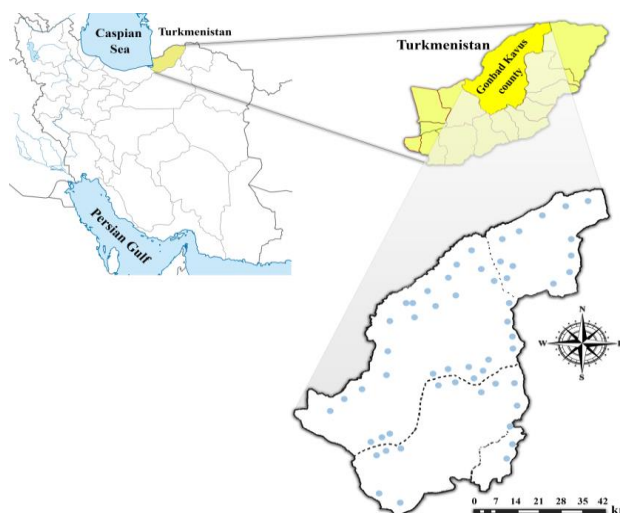
نتیجه آزمون	فراوانی (درصد)	متغیر
$P < 0.001$	۲۱۸ (۱۲/۷۹)	مکان زخم
	۵۱۰ (۲۹/۹۳)	صورت
	۴۵۲ (۲۶/۵۲)	دست
	۶۹ (۴/۰۶)	پا
	۴۵۵ (۲۶/۷۰)	تنه بیش از یک ناحیه

P<۰/۰۰۱	۵۸۱ (۳۴/۱)	روش درمان
	۴۶۲ (۲۷/۱)	سیستمیک
	۳۸۷ (۲۲/۷)	موضعی
	۲۷۴ (۱۶/۱)	کرایو به تنهایی
P<۰/۰۰۱	۲۷۴ (۱۶/۱)	سایر
	۷۴۶ (۴۳/۸)	تعداد زخم
	۵۹۷ (۳۵/۰۰)	۱ زخم
P<۰/۰۰۱	۳۶۱ (۲۱/۲۰)	۱-۳ زخم
	۱۲۱۶ (۷۱/۴۰)	> 3 زخم
	۳۷۹ (۲۲/۲۰)	دوره زخم
P<۰/۰۰۱	۱۰۹ (۶/۴۰)	< 6 هفته
	۳۷۹ (۲۲/۲۰)	۶-۱۲ هفته
	۱۰۹ (۶/۴۰)	> 12 هفته

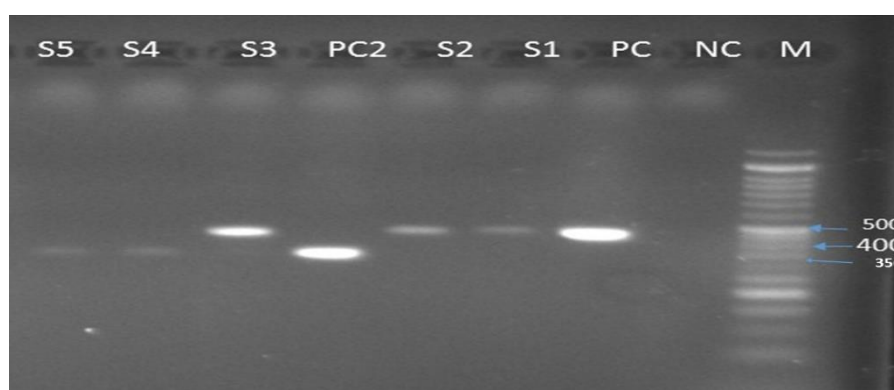
مقادیر به صورت فراوانی (درصد) و انحراف معیار \pm میانگین گزارش شده اند.



نمودار ۱. فراوانی لیشمانیوز جلدی بر حسب موارد مثبت ثبت شده در مرکز بهداشت شهرستان گنبد کاووس به تفکیک ماه‌های سال.



تصویر ۱. موقعیت جغرافیایی شهرستان گنبد کاووس: مکان هایی با بیشترین موارد بروز لیشمانیوز پوستی در شهرستان گنبد کاووس



تصویر ۲. نتیجه الکتروفورز محصولات PCR اختصاصی: M-مارکر، NC - کنترل منفی، PC کنترل مثبت کربنیدیا، S1-S2-S3 نمونه های کربنیدیا جدا شده (450 bp)، PC2 نمونه کنترل مثبت لیشمانیا، S4-S5 نمونه های لیشمانیا جدا شده (340 bp)

بحث

سالانه شیوع بیماری لیشمانیوز پوستی، بار روانی و اقتصادی قابل توجهی بر مردم و کشور وارد می نماید. جهت درمان این بیماری از ترکیبات آنتیموان پنج ظرفیتی (گلوکانتیم) استفاده می شود (۱۸). این دارو عوارض جانبی گوناگون از قبیل افزایش آنزیم های پانکراسی، کبدی، لکوپنی، آنمی و ترومبوسایتوپنی، آریتمی و در موارد نادری توکسیسیتی قلبی و گاهی مرگ ناگهانی را نیز همراه دارد (۱۹). به طور معمول،

بهبود زخم های لیشمانیایی ممکن است چند ماه طول بیانجامد و حتی با یک درمان مؤثر هم این احتمال وجود دارد که اسکار زخم به یادگار بماند. وجود اسکار زخم در نواحی باز بدن، باعث مشکلات روانی و عاطفی در بیمار می گردد (۲۰). نتایج این مطالعه نشان داد که میزان بروز این بیماری در شهرستان گنبد کاووس در طی سال های ۱۳۹۷ تا ۱۳۹۸، ۵۵ نفر در ده هزار نفر بوده است. با توجه به اینکه این بیماری در سنین ۵ تا ۹ سال بیشترین فراوانی را دارد نشانه آندمیک

داشته است که از مهم ترین آن ها می توان به مهیا بودن شرایط دمایی و رطوبت مناسب برای رشد و تکثیر پشه ها و وقوع سیل در این منطقه اشاره کرد (۲۵). به نظر می رسد در این سال ها، میزان تکثیر میزبان های ناقل و مخزن در این منطقه به طور قابل توجهی افزایش یافته بود.

از نظر آلودگی صورت، دست و پا شایع ترین محل ایجاد زخم در این مطالعه بوده است و ران و بازو از کمترین میزان آلودگی برخوردار بودند. از نظر تعداد زخم در این مطالعه ۴۳/۵ درصد بیماران دارای یک ضایعه، ۲۱/۹ درصد بیماران دارای دو ضایعه، ۱۲/۶ درصد بیماران دارای سه ضایعه و ۲۲ درصد بیشتر از سه ضایعه داشتند. به علت این که ساختار ضمامت دهانی پشه های خاکی کوتاه است و قادر نیستند از مناطق پوشیده بدن خون خواری کنند به همین دلیل در مناطق پوشیده بدن اغلب ضایعات کم دیده می شود (۲۴).

بیش از ۹۰ درصد از بیماران که در این مطالعه وارد شدند در نمای بالینی زخم مشکوک به لیشمانیوز جلدی بودند. در این نوع لیشمانیوز که از یک دوره کمون دو تا سه هفته ای دارد اغلب یک ندول ریز ایجاد می شود و در طی یک ماه، زخم ایجاد می کند که یک دلمه در سطح آن قرار دارد و زمانی که دلمه آن برداشته می شود حالت چاله مانند (دهانه آتشفشان مانند) دیده می شود که این ضایعه در اثر عدم درمان بزرگ تر شده و حتی به اندازه ۵ الی ۱۰ سانتی متر می رسد. از طرف دیگر، تعداد زخم در هر بیمار به تعداد گزش پشه خاکی، در دسترس بودن ناحیه گزش، آلوده بودن پشه خاکی و در دسترس بودن مخازن بستگی دارد (۲۶).

در این مطالعه با استفاده از روش مولکولی، گونه انگل های لیشمانیا در تمام نمونه های مورد بررسی، در مقایسه با گونه های مرجع، لیشمانیا مائور بود. همچنین سه مورد کربتیدیا فاسیکولا از زخم های بیماران جدا گردید. بیماری لیشمانیوز پوستی در شمال شرقی ایران، به صورت اپیدمیکی می باشد و عامل آن اغلب لیشمانیا مائور بوده و بیشتر در ساکنین مناطق روستایی مشاهده شده است (۲۲، ۱۲). همچنین با توجه به اینکه در مطالعات گذشته مواردی

بودن این منطقه می باشد. در این مطالعه، از لحاظ آماری اختلاف معنی داری بین جنس مذکر و مؤنث وجود داشت و مشاهده شد که میزان بروز بیماری در مردان (۵۲/۷ درصد) بیشتر از زنان (۴۷/۳ درصد) بود. دلایل این امر می تواند اشتغال بیشتر مردان در فضای باز و پوشش کمتر آن ها نسبت به زنان باشد که در نتیجه احتمال گزش توسط پشه خاکی را افزایش می دهد. در مطالعه ای مشابه که ظهیرنیا و همکاران (۱۳۸۸) در همدان انجام دادند میزان بروز لیشمانیوز پوستی در مردان نسبت به زنان افزایش قابل توجهی داشت که با این مطالعه نیز همخوانی دارد (۲۱). در مطالعه دیگری توسط پقه و همکاران (۱۳۹۲)، مردان بیشتر از زنان مبتلا به لیشمانیوز پوستی بودند و بیشترین فراوانی بیماری در گروه سنی زیر ۵ سال مشاهده شده بود (۲۲).

در مطالعه حاضر، از نظر شیوع و بروز فصلی این بیماری کمترین میزان بروز آن در فصل بهار (اردیبهشت و خرداد) و بیشترین موارد بروز مربوط به فصل پاییز (ماه های آبان و آذر) می باشد. در مطالعه ای مقطعی که توسط جرجانی و همکاران (۱۳۹۷) بر روی شیوع لیشمانیوز پوستی در استان گلستان انجام گرفت بیشترین ماه های بروز بیماری در ماه های آبان و آذر بودند که با این مطالعه نیز همسو و همخوانی دارد (۱۵). در مطالعه دیگری که توسط مهدوی و همکاران (۱۳۹۲) بر روی بیماران لیشمانیوز پوستی در استان گلستان انجام گرفت بیشترین موارد بروز بیماری در فصل پاییز بوده است و بیشترین سن ابتلا نیز در افراد زیر ۹ سال گزارش شد (۲۳). در مطالعه ای مسگریان و همکاران (۱۳۸۶) نیز در استان گلستان بین فصل مراجعه و تعداد موارد بیماری ارتباط معناداری گزارش شده است که براساس آن فصل پاییز بیشترین تعداد و فصل بهار کمترین موارد ابتلا را به خود اختصاص داده است (۲۴). آخرین طغیان ناگهانی در شیوع بیماری لیشمانیوز پوستی در منطقه گنبد کاووس در طی سال های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ رخ داده است (اطلاعات ثبت شده در شبکه بهداشت شهرستان گنبد کاووس). عوامل متعددی در بروز و شیوع بیماری لیشمانیوز پوستی در این سال ها نقش

کرتیدیا می‌باشد که اغلب این بیماران پاسخ خوبی به درمان دارویی بخصوص به گلوکانتیم نمی‌دهند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاضر و مقایسه آن با مطالعات گذشته، منطقه گنبد کاووس یکی از کانون‌های آندمیک بیماری لیشمانیوز نوع روستایی در ایران به شمار می‌رود. عامل اصلی این بیماری در این منطقه، لیشمانیا ماژور بوده است. در این مطالعه، علاوه بر شناسایی گونه‌های لیشمانیا، سه مورد کرتیدیا فاسیکولا از زخم‌های بیماران جدا گردید. پیشنهاد می‌گردد با توجه به دشوار بودن تشخیص افتراقی آماستیگوت کرتیدیا از گونه‌های لیشمانیا با روش‌های مستقیم میکروسکوپی یا کشت، از آزمایش PCR با پرایمرهای اختصاصی برای شناسایی آن‌ها استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل بخشی از پایان‌نامه دکتری انگل‌شناسی پزشکی، شماره ۱۷۱۹ با کد اخلاق به شماره IR.MAZUMS.REC.3280 دانشگاه علوم پزشکی مازندران است، بدین وسیله از معاونت محترم دانشگاه علوم پزشکی مازندران به جهت حمایت مالی این طرح سپاسگزار می‌گردم، همچنین از کارشناسان حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گلستان بخصوص کارکنان محترم شبکه بهداشت شهرستان گنبد کاووس جهت همکاری در این پروژه، تشکر و قدردانی می‌گردد.

مشاهده شد که به درمان دارویی پاسخی داده نمی‌شد با بررسی مولکولی تأیید شد این عامل مربوط به جنس کرتیدیا فاسیکولا بوده است. در مطالعه‌ای که Spotin و همکاران (۲۰۱۴) بر روی زخم‌های لیشمانیایی در خوزستان انجام دادند خصوصیات مورفولوژیک و مولکولی بیماران را مورد ارزیابی قرار دادند و از تعداد ۱۵۰ نمونه‌ای که از بیماران گرفته شده بود ۱۰۲ مورد از نظر میکروسکوپی از نظر لیشمانیا مثبت بود که از این تعداد ۹۰ مورد لیشمانیا ماژور، ۹ مورد لیشمانیا تروپیکا و ۳ مورد با عامل ناشناخته گزارش شد همچنین یک مورد، عفونت هم‌زمان (Coinfection) لیشمانیا ماژور، لیشمانیا تروپیکا و کرتیدیا در زخم بیمار مشاهده شد. در نهایت اظهار کردند که موارد ناشناخته (سه مورد) می‌تواند بالیشمانیا بیماری‌زا و غیر بیماری‌زای پستانداران یا کرتیدیا همراه شده باشد (۲۷). در یک مطالعه دیگر، قباخلو و همکاران (۱۳۹۷)، گونه‌های لیشمانیا و کرتیدیا را با استفاده از روش مولکولی، از زخم بیماران مشکوک به لیشمانیوز پوستی جدا نمودند در این بررسی، در ۹۲ درصد نمونه‌های لیشمانیا ماژور، ۵/۴ درصد عفونت هم‌زمان (Co-infection) لیشمانیا ماژور و کرتیدیا و ۱/۸ درصد گونه کرتیدیا شناسایی شدند. با انجام تعیین توالی و کاریوتایپینگ تفاوت زیادی در الگوی کروموزومی با لیشمانیا مشاهده نمودند؛ ولی تفاوت کمی در الگوی کروموزومی کرتیدیا فاسیکولا (ارگانسم رفرنس) با سایر ایزوله‌های کلینیکی کرتیدیا مشاهده شد (۲۸). گزارش‌ها حاصل نشان دهنده وجود کرتیدیا در ۱ الی ۲/۵ درصد نمونه‌ها به تنهایی و یا به صورت عفونت همراه بالیشمانیا و

منابع

1. Aronson NE, Joya CA. Cutaneous leishmaniasis: updates in diagnosis and management. *Infect Dis Clin North Am.* 2019;33(1):101-17.
2. Salimi M, Saghafipour A, Hamidi Parsa H, Khosravi M, Shirzadi MR. Economic burden evaluation of cutaneous leishmaniasis in Iran. *Shiraz E Med J.* 2019;20(6).
3. Karimkhani C, Wanga V, Coffeng LE, Naghavi P, Dellavalle RP, Naghavi M. Global burden of cutaneous leishmaniasis: a cross-sectional analysis from the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(5):584-91.

4. Organization World Health. 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. 2010; 172.
5. Schönian G, Nasereddin A, Dinse N, Schweynoch C, Schallig HD, Presber W, et al. PCR diagnosis and characterization of *Leishmania* in local and imported clinical samples. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2003;47(1):349-58.
6. Ershadi M-RY, Zahraei-Ramazani A-R, Akhavan A-A, Jalali-Zand A-R, Abdoli H, Nadim A. Rodent control operations against zoonotic cutaneous leishmaniasis in rural Iran. *Ann Saudi Med*. 2005;25(4):309-12.
7. Ghatee MA, Taylor WR, Karamian M. The geographical distribution of cutaneous leishmaniasis causative agents in Iran and its neighboring countries, a review. *Front Public Health*. 2020;8:11.
8. Akhavan A, Yaghoobi-Ershadi M, Khamesipour A, Mirhendi H, Alimohammadian M, Rassi Y, et al. Dynamics of *Leishmania* infection rates in *Rhombomys opimus* (Rodentia: Gerbillinae) population of an endemic focus of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Iran. *Bull Soc Pathol Exot*. 2010;103(2):84-9.
9. Azarmi S, Zahraei Ramazani A, Mohebbali M, Akhavan AAA, Rassi YR, Parsaeian M, et al. Study on Ectoparasites of *Rhombomys opimus* (Rodentia: Gerbillinae); the Main Reservoir Host of Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis in a Hyperendemic Foci in Segzi Area, Esfahan Province, Iran. *J Environ Health Res*. 2019;4(4):291-301.
10. Parvizi P, Hedayati M. *Leishmania* infections in rodents, reservoir hosts of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Turkmen Sahara. *J Guilan Univ Med Sci*. 2010;18(72):30-8.
11. John DT, Petri.. William A, Markel and Vogs. *Medical parasitology*, 9th edition, page 139.
12. Pagheh AS, Fakhari M, Sharif M, Danesh V, Ahmadi Z. Epidemiological survey of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania tropica* in a new focus in Khorasan Razavi Province. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2013;23(103):46-52.
13. Sabzevari S, Teshnizi SH, Shokri A, Bahrami F, Kouhestani F. Cutaneous leishmaniasis in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Microb pathog*. 2021:104721.
14. Nezamzadeh-Ezhiyeh H, Mirhendi H, Jafari R, Veysi A, Rassi Y, Oshaghi MA, et al. An eco-epidemiological study on zoonotic cutaneous leishmaniasis in central Iran. *Iranian J Public Health*. 2021;50(2):350.
15. Jorjani O, Mirkarimi K, Charkazi A, Shahamat YD, Mehrbakhsh Z, Bagheri A. The epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Golestan Province, Iran: A cross-sectional study of 8-years. *Parasite Epidemiol Control*. 2019;5:e00099.
16. Sharifi I, Aflatoonian MR, Fekri AR, Parizi MH, Afshar AA, Khosravi A, et al. A comprehensive review of cutaneous leishmaniasis in kerman province, southeastern iran-narrative review article. *Iranian J Public Health*. 2015;44(3):299.
17. Ekşi F, Özgöztaşı O, KarslığılT, Sağlam M. Genotyping *Leishmania* promastigotes isolated from patients with cutaneous leishmaniasis in south-eastern Turkey. *J Int Med Res*. 2017;45(1):114-22.
18. Gonzalez U, Pinart M, Reveiz L, Alvar J. Interventions for Old World cutaneous leishmaniasis. *Cochrane database of systematic reviews*. 2008(4).
20. Iranpour S, Hosseinzadeh A, Alipour A. Efficacy of miltefosine compared with glucantime for the treatment of cutaneous leishmaniasis: a systematic review and meta-analysis. *Epidemiol Health*. 2019;41.
21. Clem A. Current perspective on leishmaniasis. *J Glob Infect Dis*. 2010;124(2):2.

22. Zahirnia A, Moradi A, Nourouzi N, Bathaei S, Erfani H, Moradi A. Epidemiological survey of cutaneous Leishmaniasis in Hamadan province (2002-2007). *Avicenna J Clin Med.* 2009;16(1):43-7.
22. Pagheh AS, Fakhar M, Mesgarian F, Rahimi-Esboei B, Badiie F. Incidence trend of rural cutaneous leishmaniasis in Gonbad-e-Qabus city, (Golestan, Iran) during 2009-2012. *J Maz Univ Med Sci.* 2013;23(104):27-33.
23. Mahdavi SA, Javadian B, Barzegari S, Rahimi Esboei B, Moosazadeh M. Epidemiological study and geographical distribution of cutaneous leishmaniasis in Golestan province, 2014-2016. *J Maz Univ Med Sci,* 2020; 29(181): 125-130.
24. Mesgarian F, Rahbarian N, Mahmoudi Rad M, Hajaran H, Shahbaz F, Mesgarian Z, et al. Identification of *Leishmania* species isolated from human cutaneous leishmaniasis in Gonbad-e-Qabus city using a PCR method during 2006-2007. *Tehran Univ Med J.* 2010;68(4).
25. Abdullah AYM, Dewan A, Shogib MRI, Rahman MM, Hossain MF. Environmental factors associated with the distribution of visceral leishmaniasis in endemic areas of Bangladesh: modeling the ecological niche. *TropMedHealth.* 2017;45(1):1-15.
26. Ziaei Hezarjaribi H, Karamian M, Geran Orimi T, Pagheh AS, Emadi SN, Fakhar M, et al. Phylogenetic position of *Leishmania tropica* isolates from an old endemic focus in south-eastern Iran; relying on atypical cutaneous leishmaniasis. *Transbound Emerg Dis.* 2021;68(3):1493-503.
27. Spotin A, Rouhani S, Parvizi P. The associations of *Leishmania major* and *Leishmania tropica* aspects by focusing their morphological and molecular features on clinical appearances in Khuzestan province, Iran.. *Biomed Res Int.* 2014; 91351: 13.
28. Ghobakhloo N, Motazedian MH, Naderi S, Ebrahimi S. Isolation of *Crithidia* spp. from lesions of immunocompetent patients with suspected cutaneous leishmaniasis in Iran. *Trop Med Int Health.* 2019;24(1):116-126.