

بررسی و تعیین آلودگی‌های لیشمانیائی در جوندگان مخزن بیماری لیشمانیوز جلدی روستائی در منطقه ترکمن صحرا، شهرستان گنبد، استان گلستان

*دکتر پرویز پرویزی (Ph D)^۱ - مجتبی هدایتی (MSc)^۲

*نویسنده مسئول: تهران، انستیتو پاستور ایران، آزمایشگاه سیستماتیک مولکولی

پست الکترونیک: parp@pasteur.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۴/۱۶ تاریخ پذیرش: ۸۸/۶/۴

چکیده

مقدمه: لیشمانیوز جلدی روستایی، بیماری مناطق گرمسیری است که عامل آن لیشمانیا ماژور (میجر) ناقل آن پشه خاکی و مخازن آن جوندگان هستند. ترکمن صحرا پس از اصفهان، دومین منطقه مهم اندمیک این بیماری در ایران است.

هدف: تعیین عامل بیماری در مخازن بیماری است که حاصل از مشکلات صید مخزن، دوری منطقه مورد مطالعه از مناطق شهری، مشکلات نمونه برداری و روند های بعد از آن که حتی با روشهای متداول آزمایشگاهی در سالهای اخیر از منطقه انجام نشده است.

مواد و روش‌ها: برای صید جونده از تله های زنده گیر و خیار و خرما برای طعمه گذاری استفاده شد. بخشی از سرورزته گوش جوندگان به محیط کشت NNN انتقال داده شد، بخشی برای تهیه لام مستقیم و جستجوی آماسیگوت‌های انگل و بخشی دیگر به صورت سوسپانسیون برای تزریق به حیوان حساس آزمایشگاهی (BALB/c) بکار رفت و نیز از بیوپسی استفاده شد.

نتایج: از ۴۰ سر جونده صید شده ۲۷ سر رومبومیس آپیموس، ۱۲ سر مریونس لیبیکوس و ۱ سر مریونس پرسیکوس تشخیص داده شدند. از این تعداد، ۵ سر جونده در آزمایش‌های متداول آزمایشگاهی آلودگی لیشمانیائی داشتند که ۳ سر جونده متعلق به مریونس لیبیکوس، یک سر رومبومیس آپیموس و ۱ سر مریونس پرسیکوس بوده‌اند.

نتیجه‌گیری: با این یافته‌های جدید باید علاوه بر رومبومیس آپیموس، مریونس لیبیکوس و مریونس پرسیکوس هم به عنوان مخازن بیماری در منطقه مورد مطالعه مد نظر قرار گیرند.

کلید واژه‌ها: لیشمانیای ماژور / استان گلستان

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره هجدهم شماره ۷۲، صفحات: ۳۸-۳۰

مقدمه

لیشمانیوز یک بیماری با تظاهرات بالینی بسیار متفاوت است که واکنش مؤثری نداشته و درمان هم بتهنایی تاثیر کمی بر آن دارد (۱). لیشمانیوز یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گرمسیری است که در انسان به شکل‌های جلدی (سالک)، احشایی (کالا آزار) و جلدی-مخاطی ظاهر می‌شود. دو نوع جلدی و احشائی در ایران شایع ولی نوع جلدی-مخاطی آن تاکنون از ایران گزارش نشده‌است (۱ و ۲). سالک به دو فرم روستایی (مرطوب) و شهری (خشک) دیده می‌شود که عامل آنها به ترتیب لیشمانیا ماژور (میجر) و لیشمانیا تروپیکا هستند. لیشمانیوز جلدی روستایی به علت طبیعت زئونوز آن اهمیت بیشتری دارد. بسیاری از نواحی روستایی ۱۵ استان از ۳۰ استان ایران کانون اندمیک لیشمانیوز جلدی روستایی (ZCL) هستند (۳). گستره‌ی این بیماری از ۴۵ درجه عرض

شمالی تا ۳۲ درجه جنوبی است. پراکنندگی این بیماری ارتباط زیادی با اکولوژی و انتشار پشه خاکی ها به عنوان ناقل بیماری و جوندگان به عنوان مخزن بیماری دارد. این بیماری از ۹۰ کشور جهان گزارش شده که شامل کشورهای گرمسیری و جنوب اروپا است (۴-۶). این بیماری جزء ۱۰ بیماری مهم مناطق گرمسیری در جهان و ۳ بیماری اول مورد بررسی در مرکز تحقیقات بیماری‌های مناطق گرمسیری (TDR) در سازمان بهداشت جهانی (WHO) است که نوپدید، باز پدید و غیر قابل کنترل هستند. حدود ۳۵۰ میلیون نفر در معرض ابتلا به آن بوده و از این تعداد ۱۴ میلیون نفر به آن مبتلایند (۷). ۹۰٪ موارد لیشمانیوز جهان از ۷ کشور افغانستان، ایران، الجزایر، پرو، برزیل، عربستان و سوریه گزارش شده است (۸). از جمله کانون‌های این بیماری

می‌توان به اصفهان و ترکمن صحرا اشاره کرد. عامل لیشمانیوز جلدی روستایی در ایران، لیشمانیا میجر *Leishmania major* است که توسط پشه‌خاکی‌های فلوبتومینه منتقل و در مخازن جونده‌ی خانواده‌ی جربیلیده کلونیزه می‌شود (۹).

انگل لیشمانیا میجر به‌طور گسترده در منطقه‌ی پالنارتیک و اتیوپی و همچنین در ناطق شمالی و جنوبی صحرا به سمت شمال کنیا و از جنوب به سمت عربستان و همچنین جنوب عراق و ایران و ایالت‌های آسیای مرکزی، ترکمنستان، ازبکستان و شمال افغانستان دیده می‌شود. گسترش آن در مرزهای جنوب شرقی ایران به سمت پاکستان، بلوچستان و مرز هندوستان در ناحیه‌ی *Rajasthan* در نواحی خشک و نیمه خشک است (۱۰). فلوبتوموس پاپاتاسی فراوان‌ترین ناقل لیشمانیا میجر است. اما در مناطقی از هندوستان و صحرا، دو گونه *P. dobasqi* و *P. salehi* در انتقال لیشمانیا میجر بین جوندگان و انسان دخالت دارند (۱۱ و ۱۲). در صحراهای آسیای مرکزی، جربیل‌های بزرگ در کلون‌های زیاد درون لانه‌های پرپیچ و خم که پناهگاه بسیار خوبی برای پشه‌خاکی‌ها و تخم‌ریزی آنها نیز هست، زندگی می‌کنند. در انتهای فصل پاییز که هنگام انتقال بیماری است، تقریباً تمام جربیل‌ها آلوده هستند (۱۳). معمولاً آنها کلونی‌های خود را در قسمت‌هایی از خاک که عمق زیادی دارد و شرایط آب و هوایی آن نیز مناسب است می‌سازند. پراکندگی جوندگان نسبت به ناقلان لیشمانیوز بیشتر است به‌طوری‌که گستره‌ی آنها به سمت شمال آسیای مرکزی معرف حضور دیگر گونه‌های *L. turanica* و *L. gerbili* است (۱۴).

مطالعه در مورد بر روی آلودگی لیشمانیائی جوندگان در ایران از سال ۱۹۵۳ در شمال شرقی کشور در منطقه ترکمن صحرا و لطف آباد شروع شد (۱۵). بتدریج این مطالعات به مناطق دیگر ایران گسترش داده شد. در اکثر مطالعات در ایران، رومبومیس ایپموس به‌عنوان مخزن اصلی شناخته شده (۱۶ و ۱۵) ولی برخی مناطق، مریونس لیپیکوس به‌عنوان مخزن ثانویه معرفی شده است (۱۷). در

ابردژ ورامین در استان تهران و مناطق دوردست با حضور اماکن انسانی، آلودگی طبیعی لیشمانیائی در جونده رومبومیس ایپموس دیده‌شده‌بود ولی نوع انگل لیشمانیا را مشخص نکرده بودند (۱۸). در مناطق جنوب و جنوب غربی ایران، هم مرز عراق شامل سومار تا خلیج فارس که شامل همه استان خوزستان و بخشی از استان‌های ایلام، بوشهر و هرمزگان می‌شود، تا ترا اندیکا به‌عنوان مخزن لیشمانیوز نوع روستائی شناخته شده است (۱۹). در مناطق جنوب شرقی ایران شامل مناطق جنوبی استان بلوچستان، دشت یاری، کنارک و چابهار. لیشمانیوز جلدی روستائی در این مناطق شبیه نوع روستائی گزارش شده است (۲۰). رجاستان هند است (۲۰).

هدف این مطالعه تعیین گونه‌های جوندگان در مناطق بومی لیشمانیوز جلدی روستائی در منطقه ترکمن صحرا و شهرستان گنبد در استان گلستان بوده است و این که گونه‌هایی از این جوندگان آلودگی لپتومونادی دارند.

مواد و روش‌ها

صید جونده با تله‌های زنده گیر سیمی و چوبی در تابستان و پاییز سال ۱۳۸۷ در دو نوبت و از ۶ منطقه اندمیک لیشمانیوز جلدی روستائی منطقه ترکمن صحرا شهرستان گنبد استان گلستان شامل شوردهکش، دانش، جعفربای، داشلی برون، یلمه سالیان و اوخی تپه انجام شد. خیار و خرما به‌عنوان طعمه بکار رفت (شکل ۱).



شکل ۱: م. لیپیکوس آلوده صید شده از منطقه‌ی داشلی برون

بعد از صید جونده و انتقال به حیوانخانه، نمونه‌گیری انجام شد. نوع گونه جونده توسط کلیدهای معتبر

تشخیصی و استفاده از خصوصیات منحصر به فرد هر گونه از قبیل نوع و تعداد شیارهای دندان‌های پیشین، طول و اندازه گوش، وجود مو در کف پاها، رنگ ناخن دست و ... تشخیص داده می‌شد. ابتدا جونده نمونه با اتر یا کلروفرم بیهوش می‌شد. برای این منظور ابتدا پنبه‌ای را آغشته به اتر کرده و داخل یک ظرف سر بسته قرار می‌دادند، سپس جونده توسط پنس‌های بلند مخصوص از قسمت دم گرفته و به ظرف سر بسته حاوی پنبه ی آغشته به اتر منتقل می‌شد. پس از بیهوشی، گوش جونده را سمباده کشیده و با اسکالپل از سرزیته آن، نمونه تهیه شده و در محیط کشت N.N.N که حاوی آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین و پنی‌سیلین + سرم فیزیولوژی است کشت داده و محیط کشت به انکوباتور ۲۷-۲۵ درجه منتقل می‌شد. بعد از ۷۲-۴۸ ساعت در زیر میکرو سکوپ محیط کشت از نظر وجود اشکال لپتوموناد که کاملاً متحرک هستند بررسی می‌شد.

بررسی اشکال تا مدت یک ماه قابل انجام است که در صورت مشاهده نشدن لپتومونادها در زیر میکروسکوپ نتیجه منفی گزارش می‌شود. همچنین، از سرزیته گوش جونده مخصوصاً جوندگانی که به وضوح آثار بیماری در آنها مشهود بود، با سرنگ انسولین یا اسکالپل جراحی بعد از استریل کردن کامل، نمونه برداری می‌شد. سپس، نمونه روی سطح لام میکروسکوپی به صورت لایه‌ای خیلی نازک کشیده شده و صبر می‌کردند تا نمونه‌ها بدون استفاده از شعله خشک شوند اجسام آماستیگوت و پس از طی مراحل رنگ‌آمیزی با گیمسا، در زیر میکروسکوپ با عدسی چشمی ۱۰۰ و روغن ایمرسیون، بدون لامل جستجو می‌شدند. برای تزریق به حیوان حساس آزمایشگاهی نیز گوش یا محل ضایعه سمباده زده شده و با اسکالپل استریل خراش داده می‌شد و از داخل کناره‌های گوش یا محل ضایعه سرزیته برداشت می‌شد. حتی‌الامکان سعی می‌شد که خون از محل نمونه‌گیری بیرون نیاید. سپس سرزیته به شیشه ساعت که از قبل حدود ۱ تا ml۲ سرم فیزیولوژی در آن ریخته شده بود

اضافه و مخلوط می‌شد. سپس، این مایع با سرنگ انسولین کشیده و چند بار پر و خالی می‌شد تا سرزیته با سرم فیزیولوژی کاملاً مخلوط شود. در ادامه، این مخلوط به انتهای قاعده دم حیوان حساس آزمایشگاهی یعنی موش Balb/C تزریق می‌شد که البته محل تزریق از قبل با الکل ضد عفونی شده بود البته، به جای قاعده دم می‌توان نمونه را به کف پای حیوان هم تزریق کرد. سپس، حیوان حساس Balb/C در شرایط مطلوب حیوان خانه از نظر دما و غذا نگهداری و هر سه روز یک بار محل تزریق به دقت بررسی می‌شد. بررسی تا سه ماه ادامه می‌یافت که در صورت مثبت شدن، ابتدا در محل تزریق یک ندول کوچک ظاهر شده و در ادامه زخم گسترش یافته و بزرگ‌تر می‌شود که با مشاهده این حالت از محل زخم بخصوص از کناره‌های آن نمونه برداری و پس از آن دوباره تمام این مراحل از جمله کشت در محیط N.N.N انجام می‌شد. در صورت رشد انگل در این محیط می‌توان از این انگل‌ها برای PCR هم استفاده کرد. سرانجام با تزریق به Balb/C های دیگر و نهایتاً تهیه لام، موارد مثبت، دوباره تأیید می‌شدند.

برای تهیه بیوپسی از حیوان حساس که سوسپانسیون سرزیته‌ی تهیه شده از جونده‌ی مخزن وحشی به آن تزریق شده بود، ابتدا جانور را با اتر بیهوش کرده، پس از تشریح، نمونه از محل ضایعه، کبد، طحال و گره‌های لنفوی جانور به محیط کشت NNN انتقال می‌یافت و پس از ۷۲-۴۸ ساعت با میکروسکوپ معکوس برای مشاهده پروماستیگوت‌های انگل و دیدن اشکال شاخص اجسام روت، به جستجوی محیط کشت پرداخته می‌شد. بخشی از بیوپسی‌ها را روی لام قرار داده و با فشار لام دیگر گستره تهیه می‌شد. پس از رنگ‌آمیزی نمونه با گیمسای ۱۰ درصد آماستگوت‌های انگل جستجو می‌شد.

نتایج

توزیع جغرافیایی جوندگان صید شده در مناطق مختلف

تحت مطالعه:

می‌شد که به دو صورت تهیه‌ی گسترش واز سروزیته و گسترش مهری (لکه‌ای) بود.

بعد از ۱۵ تا ۲۰ دقیقه و پس از خشک‌شدن لام‌ها، برای یافتن انگل در زیر میکروسکوپ بررسی می‌شدند که نتیجه بررسی در ۴ مورد مثبت بود که محل آن بر اساس ترتیب صید با کد شماره‌گذاری مشخص شد که اشکال آماستیگوت در داخل ماکروفاژها و خون محیطی دیده می‌شدند (شکل ۲) ۴ جونده مثبت شامل سه مریونس لیبیکوس با کدهای TR01, TR02, TR40 و یک مریونس پرسیکوس با کد TR28 بودند.

نتایج حاصل از کشت سروزیته جوندگان در محیط کشت N.N.N: سروزیته‌ی گوش تمام جوندگانی که زنده صیدشده و تا هنگام انتقال به آزمایشگاه زنده مانده بودند را در محیط N.N.N کشت داده و بعد از ۴۸-۷۲ ساعت در زیر میکروسکوپ اجسام ریزت یا شکل‌های پروماستیگوت جستجو می‌شد. نتیجه بررسی کشت سروزیته جوندگان در محیط کشت N.N.N در ۴ مورد مثبت بود. ۴ جونده مثبت شامل دو مریونس لیبیکوس با کدهای TR01, TR40 و یک رومبومیس ایپموس با کد TR34 و یک مریونس پرسیکوس با کد TR28 بودند.

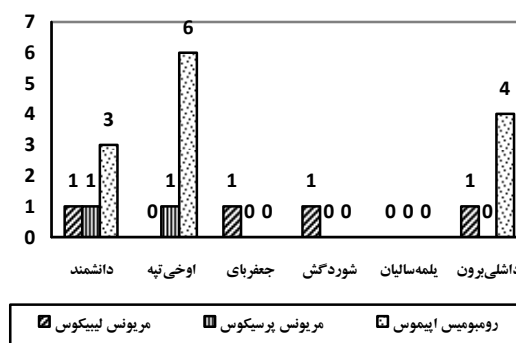
نتایج از تزریق سروزیته به حیوان حساس آزمایشگاهی (Balb/c): در ۲ مورد پس از تزریق سروزیته گوش جونده صحرائی به انتهای قاعده دم حیوان حساس آزمایشگاهی (Balb/c) زخم در محل تزریق، زخم در حیوان حساس بوجود آمد (شکل ۳). نمونه از محل این زخم‌ها در شرایط پاک به محیط کشت انتقال یافت و حضور انگل‌ها در محیط کشت پس از چند روز با میکروسکوپ invert بررسی شد. ۲ جونده مثبت شامل یک مریونس لیبیکوس با کد TR01 و یک رومبومیس ایپموس با کد TR34 بودند.

نتایج بیوپسی طحال، کبد و گره‌های لنفاوی و زخم موارد مثبت حیوان حساس آزمایشگاهی (Balb/c): بیوپسی طحال، کبد، گره‌های لنفاوی و زخم موارد مثبت حیوان حساس آزمایشگاهی (Balb/c) مجدداً در شرایط

در مرداد ماه سال ۱۳۸۷ در مناطق روستایی منطقه ترکمن صحرائی شهرستان گنبد کار صید جوندگان، با عزیمت به منطقه و شناسایی لانه‌های فعال جوندگان آغاز شد. کلونی‌های فعال و اطراف منطقه‌ی بررسی تله‌گذاری شد. بخش‌های مختلف این منطقه از جمله بیابان‌های اطراف شورگدش، دانشمند، جعفریای، یلمه سالیان، داشلی برون و اوخی تپه تحت پوشش قرار گرفتند. نتیجه‌ی صید جوندگان در شهریور ماه سال ۸۷ تعداد ۳۱ سر جونده بود. جوندگان صید شده از روی کلید تعیین گونه شدند که به قرار زیر بود: از ۳۱ سر جونده صید شده، ۱ سر مریونس پرسیکوس، ۱۰ سر مریونس لیبیکوس و ۲۰ سر رومبومیس ایپموس تشخیص داده شد.

در ادامه صید جونده در آبان و آذر ۸۷ مجدداً به منطقه عزیمت و لانه فعال جوندگان شناسایی شد. لازم به ذکر است که اغلب لانه‌های قبلی جوندگان غیر فعال شده بودند زیرا یک اصل در زندگی جوندگان آن است که آنها به‌طور مرتب محل زندگی خود را عوض می‌کنند. این بار ۹ سر جونده صید شد که گونه‌های آنها به قرار زیر تشخیص داده شدند:

از ۹ سر جونده صید شده ۲ سر مریونس لیبیکوس و ۷ سر رومبومیس ایپموس بودند (نمودار ۱).



نتایج حاصل از تهیه لام میکروسکوپی از سروزیته گوش جوندگان: از سروزیته محل سمباده‌زنی گوش جوندگان با اسکالپل استریل نمونه‌برداری و از آن به‌صورت یک لایه نازک بر لام میکروسکوپی اسلاید تهیه شد. پس از فیکساسیون با متانول با گیمسای ۱۰ تا ۲۰٪ رنگ‌آمیزی شد. برای اطمینان از هر جونده ۲ لام تهیه

پاک به محیط کشت انتقال داده شد. پس از چند روز حضور انگل‌ها در محیط کشت با میکروسکوپ invert بررسی شد ۲ جونده مثبت شامل یک مریونس لیپیکوس با کد TR01 و یک مریونس پرسیکوس با کد TR28 بودند.

موارد مثبت لیشمانیائی جوندگان صید شده از ترکمن صحرا با روش‌های مختلف آزمایشگاهی با جزئیات در جدول ۱ و نمودار ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱: جدول موارد مثبت لیشمانیا در جوندگان مورد مطالعه با روش‌های مختلف

انواع روش‌ها نوع جونده	توزیع به BALB/c		تهیه لام		انتقال به محیط کشت		بیوپسی	
	مورد مثبت	فداه طرز تهیه	مورد مثبت	لام‌های تهیه شده	موارد مثبت	کشت‌های تهیه شده	موارد مثبت	کل موارد
Rhombomys Opimus	۱ (TR34)	۶	-	۶	۱ (TR34)	۶	-	-
Meriones libycus	۱ (TR01)	۴	۳ (TR01-02-40)	۴	۲ (TR01-40)	۴	۱ (TR01)	۱
Meriones persicus	-	-	۱ (TR28)	۱	۱ (TR28)	۱	۱ (TR28)	۱

بحث و نتیجه‌گیری

در استان خراسان، بکران در استان سمنان، ابرقو در استان یزد، تبریز و استهبان در استان فارس، انگل لیشمانیا از این دو جونده جدا شده است و به نظر می‌رسد که باید لیشمانیا می‌جرباشد (۲۳ و ۲۴). در ابردژ و رامین در استان تهران، در مناطق دور از اماکن انسانی آلودگی طبیعی لیشمانیائی در رومبومیس اپیموس یافت شده ولی نوع انگل لیشمانیا در آنها مشخص نشده است. در مناطق جنوب و جنوب غربی ایران، هم مرز با عراق از سومار تا خلیج فارس شامل همه استان خوزستان، قسمتی از استان‌های ایلام، بوشهر و هرمزگان، تاترا اندیکا به‌عنوان مخزن لیشمانیوز نوع روستائی شناخته شده است. در مناطق جنوب شرقی ایران مخزن اصلی بیماری مریونس هوریانه است و این مناطق شامل مناطق جنوبی استان بلوچستان، دشت یاری، کنارک و چابهار است. لیشمانیوز جلد روستائی در این مناطق شبیه لیشمانیوز جلدی روستائی گزارش شده از مناطق راجستان هند است (۲۴ و ۲۵).

از هدف‌های این مطالعه تشخیص گونه‌های جوندگان در مناطق بومی لیشمانیوز جلدی نوع روستائی ترکمن

لیشمانیا می‌جرباشد عامل لیشمانیوز جلدی روستائی در ایران و مهم‌ترین عامل آن است و مخازن آن در ایران موش‌های بزرگ گروه جربیلیده صحرائی هستند که در مقاله‌های متعدد محققان ایرانی به‌عنوان مخزن بیماری معرفی شده‌اند. رومبومیس اپیموس بیشتر در خاک‌های مرطوب و نرم و همچنین در تپه‌های کوچک لانه می‌سازد. مریونس لیپیکوس اغلب در کنار رومبومیس لانه می‌سازد و حتی همراه با آنها داخل یک لانه می‌تواند قرار بگیرد. مریونس پرسیکوس در تپه ماهورها و سنگلاخ‌ها نیز توانایی ساخت لانه دارند (۲۱). بعد از شناسائی لانه‌های جونده فعال، در لانه‌های مناسب، صید با تله‌های زنده‌گیر اقدام می‌شد. در اکثر مطالعات محققان در ایران، رومبومیس اپیموس به‌عنوان مخزن اصلی بیماری گزارش شده (۲۱ و ۲۲). ولی در بعضی مناطق مریونس لیپیکوس مخزن ثانویه بوده است. این دو جونده حتی در بعضی از مناطق ایران بخصوص مناطق جنوبی و مرکزی که لیشمانیوز جلدی روستائی شایع است مخزن لیشمانیا می‌جرباشد است. البته در مناطق ترکمن صحرا، لطف‌آباد و سرخس هم مرز ترکمنستان معرفی گردیده، در اسفراین

نمونه برداری و تزریق به حیوان آزمایشگاهی بالا بیاید یا با نمونه برداری و کشت در آن رشد کند.

براساس ردیابی و یافت منحصراً انگل لیشمانیا در جوندگان

تنها می‌توان نتیجه گرفت که حداقل ۳ گونه جونده در مناطق شیوع لیشمانیوز جلدی ایران مخزن بیماری باشند و گاهی یک یا بیش از یکی از انگل‌های لیشمانیای گروه پستانداران یا جربیلیده‌ها را دارا هستند (۲۷). با توجه به میزان آلودگی لیشمانیای‌های متنوع گروه جربیلیده می‌توان این ایده را مطرح ساخت که بیش از یکی از این جوندگان شامل رومبومیس اپیموس، مریونس لیپیکوس و مریونس پرسیکوس مخزن لیشمانیا مازور و دیگر لیشمانیاهای احتمالی پستانداران باشند. با توجه به ۳ مورد در مریونس لیپیکوس در برابر یک مورد مثبت در رومبومیس اپیموس، جونده گونه مریونس لیپیکوس را می‌توان مخزن اصلی این بیماری در این منطقه محسوب کرد. به‌طور قطع، نیاز به مطالعه بیشتر در آینده وجود دارد تا مخزن اصلی بیماری در منطقه از بین این سه جونده تایید قطعی و ثابت شود. شاید بعضی از این جوندگان در یک منطقه خاص نقش مخزن اصلی را ایفا کنند ولی در منطقه‌ای دیگر به عنوان مخزن ثانویه مطرح باشند و همچنین لیشمانیای دیگری در جوندگان یافت شده که برای انسان بیماری‌زا نیست ولی قادر است چرخه این لیشمانیا می‌تواند سیکل زندگی لیشمانیا میجر را در جوندگان مخزن تقویت کند یا به‌نوعی تحت تاثیر قرار دهد. به‌نظر می‌رسد که در مناطق شمالی ایران بیشترین انتقال لیشمانیا میجر، لیشمانیا تورانیکا و لیشمانیا جربیلی در داخل یا نزدیک لانه جوندگان موش‌های صحرائی بزرگ رومبومیس اپیموس اتفاق می‌افتد. لانه این جوندگان پناهگاه لازم را برای بسیاری از گونه‌های پشه خاکی و پستانداران مخزن و نیز خزندگان فراهم می‌کند که زمینه‌ساز پیدایش جایگاه مناسب با خطر بالای انتقال انگل در پستانداران مخزن و مارمولک‌ها است (۹ و ۲۷).

صحرا، گونه‌های آلوده لپتومونادی و تعیین قطعی وجود انگل لیشمانیا در جوندگان این منطقه بوده است.

پرویزی و همکاران طی سال‌های ۱۳۷۲ و ۱۳۷۳، ۱۰۶ سر جونده در منطقه ترکمن صحرا صید کرده و باروش‌های متداول آزمایشگاهی، به بررسی آلودگی لیشمانیائی پرداختند. یعقوبی ارشادی و همکاران، در سال ۱۹۹۶، آلودگی لیشمانیائی در جوندگان منطقه نظنز را مطالعه کرده و متعاقباً پرویزی و همکاران در سال ۲۰۰۸ از این منطقه در سه گونه مختلف جونده آلودگی لیشمانیائی گزارش کردند (۹ و ۱۳). محبعلی و همکاران در سال ۲۰۰۴ البته طی حدود ۱۰ سال یعنی از سال ۱۹۹۱ تا ۲۰۰۰ با بررسی ۵۶۶ سر جونده صید شده به آلودگی لیشمانیائی پرداختند (۲۶).

مطالعه بر انواع لیشمانیوز در ایران سابقه‌ای طولانی دارد. بخصوص استفاده از روش‌های متداول آزمایشگاهی مثل نمونه برداری مستقیم و ثبوت روی لام و دیدن انگل زیر میکروسکوپ، نمونه برداری و تزریق به حیوان آزمایشگاهی، نمونه برداری و استفاده از محیط کشت و بیوپسی که در این مطالعه نیز بکار رفته و در ۵ سر جونده، آلودگی لیشمانیائی نشان داد. لیشمانیا میجر با هر ۴ روش بکار رفته مورد مطالعه در منطقه ترکمن صحرا در سه گونه مختلف جونده‌ها برای اولین بار است که گزارش می‌شود که این یافته باید مورد توجه محققان این رشته و نیز مراکز بهداشتی، درمانی و دانشگاهی قرار گیرد. روش‌های متداول آزمایشگاهی بیشتر در موارد انسانی بکار رفته و از مخازن حیوانی کمتر نمونه برداری شده است. در مقایسه به مطالعات پرویزی و همکاران طی سال‌های ۱۳۷۲ و ۱۳۷۳ که موارد مثبت لیشمانیائی در جوندگان منطقه را بالای ۵۰ درصد گزارش کرده بود در سال‌های اخیر شاید به دلیل اجرای برنامه کنترل بیماری در منطقه باشد که بیماری در جوندگان کم شده یا تعداد انگل در آنها به آن اندازه نبوده که در نمونه برداری مستقیم ثبوت روی لام، انگل زیر میکروسکوپ دیده شود یا در

جمع‌آوری نمونه و کمک در کارهای آزمایشگاهی مربوط به جوندگان نقش شایانی داشتند تشکر می‌نمایند. از سرکارخانم مهین فرهمند عضو هیات علمی بخش انگل‌شناسی انستیتو پاستور ایران که در تهیه محیط کشت و مشاهده لام مستقیم ما را یاری نمودند سپاسگزاری می‌کنیم. بودجه این تحقیق از محل اعتبار پژوهشی انستیتو پاستور ایران و طرح مصوب شماره ۳۶۷ دکتر پرویز پرویزی تامین شده‌است.

تشکر و قدردانی: نویسندگان مقاله از همکاری صمیمانه آقای دکتر طاهرخانی استاد دانشگاه علوم پزشکی گرگان و آقای دکتر بدیعی معاون بهداشتی و رئیس مرکز بهداشت گنبد و همکارانشان در فراهم ساختن مکان اقامت همکاران طرح برای جمع‌آوری نمونه در منطقه سپاسگزاری کنند. از آقایان آزاد افسواران، قاسم مرادی و مهدی باغبان و خانم الناز علائی نوین از همکاران آزمایشگاه سیستماتیک مولکولی انستیتو پاستور که در

منابع

1. Drummel Smith J, Brochu V, Girard I, Messier N, Ouellette M. Proteome Mapping of the protozoan parasite *Leishmania* and Application to the study of Drug Targets and Resistance Mechanisms. *Mol Cell Proteomics* 2003; 2: 146-155.
2. Killick-Kendrick R. Phlebotomine vectors of the leishmaniases. A review *Med Vet Entomol* 1990; 4: 1-24.
3. Mohebbali M, Yaghoobi-Ershadi MR, Akhavan AA, Hajjaran H, Abaei MR. Characterization of *Leishmania* infection in rodents from endemic areas of the Islamic Republic of Iran. *East Med Health J* 2004; 10: 591-599.
4. Evans D. Handbook on isolation characterization and cryopreservation of *Leishmania*. World Health Organization Geneva 1989; P: 1 – 157.
5. Ardehali S, Moattari A, Hatam GR, Hosseini SMH, Sharifi I. Characterization of *Leishmania* isolates in Iran Serotyping with species specific monoclonal antibodies. *Acta Trop* 2000; 75: 301-307.
6. Strelkova MV, Eliseev LN, Ponirovsky EN, Dergacheva TI & Evans DA. Mixed leishmanial infections in *Rhombomys optimus* a key to the persistence of *Leishmania major* from one transmission season to the next. *Ann Trop Med Parasitol* 2001; 95: 811-819.
7. Schönian G, ElFari M, Lewin S, Schweynoch C & Presber W. Molecular epidemiology and population genetics in *Leishmania*. *Med and Microb Immun* 2001; 190: 61-63.
8. WHO TDR strategic Direction for Research Leishmaniasis. 2002. available at: www.who.int/tdr.
9. Parvizi P, Ready PD. Nested PCRs and sequencing of nuclear ITS-rDNA fragments detect three *Leishmania* species of gerbils in sandflies from Iranian foci of zoonotic cutaneous leishmaniasis. *Trop Med Int Health* 2008; 13: 1-13.
10. Seyedi-Rashti M, & Nadim A. Epidemiology of cutaneous Leishmaniasis in Iran B.khorassan area part I the reservoirs. *Bull Soc Pathol Exot.* 1967 ; 60: 510-518.
11. Nadim A, & Faghih M. The epidemiology of cutaneous Leishmaniasis in the Isfahan province of Iran: I The reservoir II The human disease . *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg* 1968; 61: 534-542.
12. Yaghoobi-Ershaadi MR, Javadian E, Tahvildare-Bidruni GH. *Leishmania major* MON-26 isolated from naturally infected *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) in Isfahan Province Iran. *Acta Trop* 1995 ; 59: 279-282.
13. Yaghoobi-Ershadi MR, Akhavan AA, Mohebbali M. *Meriones libycus* and *Rhombomys opimus* (Rodentia: Gerbillidae) are the main reservoir hosts in a new focus of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Iran. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996; 90: 503-504.
14. Parvizi P, Mauricio I, Aransay, AM, Miles, MA, Ready, PD. First detection of *Leishmania major* in peridomestic Iranian sandflies comparison of Nested-PCR of nuclear ITS ribosomal DNA and Semi-Nested-PCR of minicircle kinetoplast DNA. *Acta Trop* 2005; 93: 75-83.
15. Seyedi-Rashti M, & Nadim A. Epidemiology of cutaneous Leishmaniasis in Iran B.khorassan area part I the reservoirs. *Bull Soc Pathol Exot.* 1967;60:510-518.
16. Ansari N, & Faghih M. Leishmaniose cutanee a *L.tropica* chez *Rhombomys opimus* . *Ann parasit Hum Comp* 1953 ; 28:241-246.

17. Javadian E, Mesgali A. Studies on cutaneous leishmaniasis in Khuzestan Iran Part I The leptomonad infection of sandflies. *Bull Soc Pathol Exot* 1974; 67: 513-516.
18. Nadim A, Mesghali A, & Javadian E. Cutaneous Leishmaniasis in southern Iran. *Colloques intentionaux du C.N.R.S* 1974; 239: 216.
19. Nadim A, Faghih M. The epidemiology of cutaneous leishmaniasis in the Isfahan province of Iran The Reservoir II The human disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1968; 61: 534-542.
20. Nadim A, Seyedi-Rashti MA. A brief review of the epidemiology of various types of leishmaniasis in Iran. *Acta Med Iran* 1971; 14: 99-106.
21. Yaghoobi-Ershadi MR, Akhavan AA, Mohebbali M. *Meriones libycus* and *Rhombomys opimus* (Rodentia: Gerbillidae) are the main reservoir hosts in a new focus of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Iran. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996; 90: 503-504.
22. Nadim A, Faghih M. The epidemiology of cutaneous leishmaniasis in the Isfahan province of Iran I The Reservoir II The human disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1968; 61: 534-542.
23. Parvizi P, Javadian E, Assmar M, Naddaf SR, Amirkhani A. A survey on the host reservoirs of cutaneous leishmaniasis in Turkmen Sahara area Iran. *Parasitol Int* 1998; 47: (Suppl.) 186.
24. Ansari N, & Faghih M. Leishmaniose cutanee a *L.tropica* chez *Rhombomys opimus*. *Ann parasit Hum Comp* 1953 ; 28:241-246.
25. Nadim A, Seyedi-Rashti MA, Mesgali A. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Turkmen Sahara Iran. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1968; 71: 238-239.
26. Mohebbali M. et al. Rodents another group of animal reservoir hosts of visceral Leishmaniasis in Meshkin-Shahr district the Islamic Republic of Iran. *E Med Hlth J* 1991; 4: 376-8.
27. Parvizi P, Moradi G, Akbari G, Ready PD, Farahmand F, Piazak N, Assmar M, Amirkhani A. PCR detection and sequencing of parasite ITS-rDNA gene from reservoirs host of zoonotic cutaneous leishmaniasis in central of Iran. *Parasitol Res* 103: 1273- 1278.

***Leishmania* Infections in Rodents, Reservoir Hosts of Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis in Turkmen Sahara, Gonbad, Golastan Province**

*Parvizi P.(Ph D)¹ -Hedayati M.(MSc)^{1,2}

*Corresponding Address: Molecular Systematics Laboratory, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

E-mail: parp@pasteur.ac.ir

Received: 26/Aug/2009 Accepted: 7/Jul/2009

Abstract

Introduction: Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis (ZCL) is a tropical diseases caused by *Leishmania major*, which sandflies are vectors and rodents are reservoirs host. Turkmen Sahara after Isfahan, is the most important endemic disease focus in Iran.

Objective: Determination of *Leishmania* Infections in Rodents, Reservoir Hosts of Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis in Turkmen Sahara, Gonbad, Golastan Province.

Materials and Methods: Rodents were captured by live-capture traps. Cucumber and sometimes date were used for bating. A part of rodents ears was used to have serosite. Serosite transferred into NNN media, a part of rodents ears was used for sliding and staining for amastigote detection and other parts were used for inoculation to susceptible animal (Balb/c) in suspension form and biopsy was used.

Results: 40 rodents were captured, 27 were *Rhombomis opimus*, 12 were *Meriones libycus* and one was *Meriones persicus*. Of 40 rodents captured, 5 were positive in routine laboratory methods which 3 positive were *M. libycus*, one was *R. opimus* and one was *M. persicus*

Conclusion: Besides these new findings in *R. opimus* as well as in *M. libycus* and *M. persicus*. These two rodents should be considered as reservoirs of ZCL in region.

Key words: *Leishmania major*, *Rhombomis opimus*, *Meriones libycus*, *Meriones persicus*, Golastan province

Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 72, Pages:30-38