

Sero-Prevalence Study of Visceral Leishmaniasis Using Direct Agglutination Test (DAT) in Children Up to 12 Years Old in Delphan City, Lorestan Province: Introduce A New Focus Of VL In Iran

Leila Masoori¹, Vahideh Moin-Vaziri², Farnaz Kheirandish³, Behnaz Akhoundi⁴, Ali Haghighi², Latif Gach-kar⁵,
Alireza Abadi⁶, Ali Chegeni Sharafi⁷, Mehdi Mohebbali^{8,9*}

¹Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

²Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

⁴Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁵Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁶Department of Social Medicine and Health, School of Public Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁷Department of Communication Disease Control and Prevention, Deputy of Health, Lorestan University of Medical Sciences, Lorestan, Khorramabad, Iran

⁸Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁹ Center for Research of Endemic Parasites of Iran (CREPI), Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 3 Dec, 2013 Accepted: 16 Sep, 2013

Abstract

Background and Objectives: Two clinical forms of leishmaniasis exist in Iran: cutaneous and visceral. According to the sporadic reports of new cases of Visceral Leishmaniasis (VL) in Lorestan province, real status of VL is not clear, so this study aimed to describe the seroprevalence of VL in Delphan city.

Materials and Methods: In this descriptive analytic study, blood samples were collected from children \leq 12 years and 10% of adults by a multi-stage randomized cluster sampling from January 2012 to September 2012. The sero-prevalence evaluation was done by Direct Agglutination Test (DAT). Based on different studies in Iran, the 1/800 and 1/1600 titers were considered as the infection with *L. infantum* and the of titers \geq 1/3200 accompanied with clinical symptoms was considered as VL disease.

Results: 800 collected serum samples, 21(2.62%) showed anti-*Leishmania* antibodies at titers of 1/800 and 1/1600, whereas 5(0.62%) showed anti-*Leishmania* antibodies at titers of \geq 1/3200. But just one of them showed clinical symptoms (anemia and large abdominal) which is under treatment with miltefosine.

Conclusion: A new focus of VL with low endemicity is going to be formed in our region, which showed that further studies on vector and reservoirs is necessary in the region and other parts of Lorestan province.

Keywords: Sero-epidemiology, Visceral leishmaniasis, Direct Agglutination Test, Human, Iran

*Corresponding author:

E-mail: mohebbali@tums.ac.ir

مقاله پژوهشی

شیوع سرمی لیشمانیازیس احشایی به روش آگلوتیناسیون مستقیم در کودکان زیر ۱۲ سال شهرستان دلفان استان لرستان: معرفی یک کانون جدید

ایلا ماسوری^۱، وحیده معین وزیری^۲، فرناز خیر اندیش^۳، بهناز آخوندی^۴، علی حقیقی^۵، لطیف گچکار^۶، علیرضا ابدی^۷، علی چگنی شرفی^۸، مهدی محبعلی^{۹*}

^۱مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
^۲گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
^۳گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران
^۴گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
^۵مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
^۶گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
^۷واحد پیشگیری و کنترل بیماریهای واگیر حوزه معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران
^۸گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
^۹مرکز تحقیقات انگل های بومی ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران

دریافت: ۹۲/۹/۱۲ پذیرش: ۹۲/۱۰/۱۸

چکیده

زمینه و اهداف: دو فرم جلدی و احشایی بیماری لیشمانیازیس در ایران وجود دارد. علیرغم گزارشات پراکنده ای از وقوع موارد جدید لیشمانیازیس احشایی در شهرستان دلفان استان لرستان در سالهای اخیر، از شیوع واقعی این بیماری در انسان اطلاعاتی در دسترس نبود و لذا هدف از این مطالعه بررسی شیوع سرمی لیشمانیازیس احشایی در شهرستان دلفان طی سالهای ۹۲-۱۳۹۱ بوده است.

مواد و روشها: در این مطالعه توصیفی تحلیلی، نمونه های خون در دی ماه ۱۳۹۰ تا آبان ماه ۱۳۹۱ از کودکان زیر ۱۲ سال و ۱۰٪ از بزرگسالان روستاهای منتخب شهرستان دلفان، به روش خوسه ای تصادفی جمع آوری گردید و برای تعیین شیوع سرمی لیشمانیازیس از روش سرولوژی آگلوتیناسیون مستقیم استفاده شد. بر اساس مطالعات انجام شده در مناطق مختلف ایران، عیارهای ۱/۸۰۰ و ۱/۱۶۰۰ به عنوان عفونت ناشی از *Leishmania infantum* و عیارهای $\geq 1/3200$ همراه با علائم بالینی اختصاصی به عنوان بیماری لیشمانیازیس احشایی در نظر گرفته شدند.

یافته ها: از مجموع ۸۰۰ نمونه سرمی مورد بررسی، در ۲۱ مورد (۲/۶۲٪) آنتی بادی ضد لیشمانیایی با عیارهای ۱/۸۰۰ و ۱/۱۶۰۰ مشاهده شد و در ۵ مورد (۰/۶۲٪) عیار آنتی بادی ضد لیشمانیا $\geq 1/3200$ بوده است؛ که تنها در یکی از این افراد علائم بزرگی شکم و کم خونی مشاهده شد که مورد اخیر با داروی میلنوفوزین تحت درمان قرار گرفته است.

نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان دهنده شکل گیری یک کانون جدید لیشمانیازیس احشایی با اندمیسیتی پائین در شهرستان دلفان است که جهت تعیین وضعیت اپیدمیولوژیک بیماری مطالعات بر روی ناقلین و مخازن حیوانی در این شهرستان و شهرستان های همجوار پیشنهاد می گردد.

کلید واژه ها: لیشمانیازیس احشایی، عفونت سرمی، آگلوتیناسیون مستقیم، انسان، ایران

* ایمیل نویسنده مسئول: mohebbali@tums.ac.ir

مقدمه

(خانواده تریپانوزوماتیده) ایجاد می گردد. انگل لیشمانیا بر حسب محیط زندگی خود به دو شکل اماسیتیگوت و پروماستیگوت دیده

لیشمانیازیس به گروهی از بیماری های انگلی اشاره دارد که توسط تک یاخته های تازکدار متعلق به جنس *Leishmania*

مواد و روش‌ها

موقعیت جغرافیایی شهرستان دلفان:

شهرستان دلفان با جمعیت حدود ۸۵۰۰۰ نفر در استان لرستان قرار دارد. این شهرستان در بلندی ۱۸۰۰ متر از سطح دریا و در ۹۰ کیلومتری شمال غربی خرم آباد، در مسیر راه‌های خرم آباد- کرمانشاه قرار دارد و با شهرستان‌های الشتر، هرسین و نهاوند همجوار است. آب و هوای دلفان سرد و کوهستانی است. در شهرستان دلفان ۱۲۰۰ خانوار عشایری با جمعیت هفت هزار نفر زندگی می‌کنند.

نمونه برداری و گروه هدف:

مطالعه به صورت توصیفی - تحلیلی و به مدت تقریباً یک سال (دی ماه ۱۳۹۰ تا آبان ۱۳۹۱) در مناطق روستائی شهرستان دلفان انجام گردید. مناطق مورد بررسی به صورت تصادفی از جهات مختلف جغرافیایی شمال، جنوب، شرق و غرب شهرستان انتخاب شد، اسامی روستاها لیست گردید و سپس به شکل تصادفی ساده تعداد ۶ روستا (خوشه) از بین آنها انتخاب شد و در مجموع تعداد نمونه‌های هر خوشه ۱۳۵ نمونه مشخص گردید. جمع آوری اطلاعات از طریق پرسشنامه‌ای که از قبل آماده شده بود، انجام گرفت. این تعداد بر اساس فرمول حجم نمونه و مطالعات قبلی در ایران انتخاب شدند (۱۷-۱۵). گروه هدف در این مطالعه کودکان زیر ۱۲ سال روستاهای منتخب و ۱۰ درصد از بزرگسالان ساکن مناطق بودند که از هر نفر ۲-۳ میلی لیتر خونگیری شد. نمونه‌ها با حفظ زنجیره سرد به مراکز بهداشتی منتقل شده و سرم آنها با سانتریفیوژ در دور ۳۰۰۰ بمدت ۵ دقیقه جدا گردید و تا زمان انجام تست آگلوتیناسیون مستقیم (DAT) در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

تست آگلوتیناسیون مستقیم:

آنتی ژن در واحد تک یاخته شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه می‌گردید که به اختصار شامل تکثیر انگل *Leishmania infantum* سویه ایران در محیط RPMI 1640 (دارای ۱۰٪ سرم جنین گاوی)، تریپسینه کردن اشکال تاژکدار انگل، ثابت کردن با فرمالین ۲٪ و رنگ‌آمیزی توسط کوماسی بریلیانت آبی با غلظت ۰/۰۲٪ می باشد، تهیه گردید (۲۵ و ۱۱). اساس روش DAT آگلوتیناسیون فرم پروماستیکوت انگل *Leishmania infantum* موجود در آنتی ژن، در مجاورت رقت‌های مختلف سرم بیمار می‌باشد که در صورت حضور آنتی بادی اختصاصی در سرم بیمار، پس از گذشت ۱۸ ساعت صورت می پذیرد و با رویت حالت کلوییدی ابری شکل آبی رنگ مشخص می‌شود. رقت سازی سرم بیماران به کمک محلول رقیق کننده حاوی ۰/۷۸ درصد دو مرکاپتو اتانل و میکرو پلیت ۹۶ خانه ای V شکل انجام شد. ابتدا تمامی نمونه‌ها مورد غربالگری با عیار ۱/۸۰۰ قرار گرفتند و در صورت مشاهده نیجه مثبت آگلوتیناسیون، برای جهت تعیین عیار، نمونه‌ها در رقت‌های بالاتر نیز آزمایش شدند. عیارهای ۱/۳۲۰۰ و به بالا، همراه با علائم بالینی اختصاصی به عنوان ابتلای فرد به کالآزار تلقی شده، عیارهای ۱/۸۰۰ و به پایین منفی و عیار ۱/۱۶۰۰ به عنوان عیار مشکوک در نظر گرفته می‌شود که نیاز به تکرار مجدد، نمونه برداری و آزمایش خواهد داشت.

می‌شود و در داخل سلول‌های بیگانه خوار تک هسته‌ای مهره داران زندگی کرده و تکثیر می‌یابد (۳-۱). این بیماری که در اکثر نقاط جهان وجود دارد، به صورت ضایعات پوستی (سالک)، احشایی (کالآزار) و جلدی - مخاطی بروز می‌کند (۳). انگل لیشمانیا عموماً توسط گزش پشه خاکی‌های ماده به انسان و سایر پستانداران منتقل می‌شود (۸-۴). بیماری لیشمانیازیس به عنوان یکی از مشکلات عمده بهداشتی و پزشکی در بسیاری از کشورهای جهان از جمله ایران مطرح می‌باشد (۹). سازمان جهانی بهداشت، لیشمانیازیس را در گروه بیماری‌های فراموش شده و بازپدید دنیا معرفی کرده که ۳۵۰ میلیون نفر در بیش از ۹۸ کشور دنیا در معرض خطر ابتلا به آن قرار دارند و ۱۲ میلیون نفر در این کشورها مبتلا هستند. میزان بروز سالانه این بیماری ۲ میلیون نفر تخمین زده شده که ۵۰۰ هزار مورد آن مربوط به لیشمانیازیس احشایی است (۱۰ و ۸). در ایران بیماری معمولاً به دو شکل جلدی و احشایی وجود دارد. گزارش سالانه لیشمانیازیس جلدی در ایران حدود ۲۰۰۰۰ مورد است، در حالیکه این میزان برای نوع احشایی حدود ۱۰۰ تا ۳۰۰ مورد در سال تخمین زده می‌شود (۱۳-۱۱). لیشمانیازیس احشایی در بیشتر مناطق ایران بصورت اسپورادیک و در مناطقی از استان‌های اردبیل (مشکین شهر و دشت مغان)، آذربایجان شرقی (اهر و کلیبر)، فارس (فیروز آباد و جهرم)، بوشهر (خورموج و برازجان)، خراسان شمالی و قم (بخش خلجستان) بصورت اندمیک دیده می‌شود (۱۵-۱۳). عامل اصلی بیماری کالآزار در منطقه مدیترانه، از جمله ایران *Leishmania infantum* می‌باشد. مخازن بیماری سگ و سگ سانان (روباه، شغال و گرگ) و ناقلین آنرا گونه‌های مختلف پشه خاکی از جنس *Phlebotomus* تشکیل می‌دهند (۳). این بیماری در ایران، اغلب در کودکان زیر ده سال دیده می‌شود و بیشتر بین روستائیان شایع بوده و بیشترین موارد بیماری مربوط به عشایر استان‌های مختلف کشور می‌باشد (۱۶). علائم اصلی بیماری شامل رنگ‌پریدگی، تب، بزرگی کبد و طحال، کاهش وزن و لنفادنوباتی می‌باشد (۱۳). عدم تشخیص و درمان به موقع بیماری در انسان، تا ۹۰٪ باعث مرگ و میر بیماران به ویژه کودکان می‌گردد. در حالیکه با تشخیص و درمان به موقع نزدیک به ۹۵٪ بیماران بهبود می‌یابند. بنابراین تشخیص به موقع بیماری و نهایتاً درمان، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۱۷). درمان بیماری عموماً متکی به تزریق ترکیبات ۵ ظرفیتی آنتیموان است که اثر درمانی آن در همه جا یکسان نیست، داروی خوراکی میلتفوسین نیز بر روی لیشمانیازیس احشائی و جلدی بخوبی موثر است (۱۹-۱۸). برای تشخیص این بیماری، از روش‌های مختلفی از جمله اسپیراسیون مغز استخوان جهت مشاهده اجسام لیشمن، روش‌های سرولوژی (DAT, ELISA, IFA و rK39) و روش‌های مولکولی استفاده می‌شود (۳, ۱۱, ۲۰-۲۲). روش سرولوژی DAT روشی ساده، معتبر و قابل اعتماد برای مطالعات سرواپیدمیولوژی و تشخیص آزمایشگاهی لیشمانیازیس احشائی انسان و مخازن حیوانی این بیماری محسوب می‌گردد (۳, ۱۱, ۲۳, ۲۴). علیرغم گزارش‌های پراکنده‌ای از وجود بیماری کالآزار در استان لرستان، هیچگونه آمار رسمی از شیوع واقعی بیماری در منطقه مورد نظر در دست نبوده است. این مطالعه برای اولین بار به منظور بررسی شیوع سرمی بیماری در شهرستان دلفان انجام شده است.

جدول ۱: عبارهای آنتی بادی ضد *Leishmania infantum* به روش آزمایش آگلوتیناسیون مستقیم بر حسب سن در افراد تحت مطالعه شهرستان دلفان در سال ۱۳۹۱-۱۳۹۰

گروه سنی	تعداد	عباراتی بادی					
		≥۱/۳۲۰۰		۱/۱۶۰۰		۱/۸۰۰	
		درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد
≤۴	۱۹۵	۲	۱/۰۲	۵	۲/۵۶	۹	۴/۶۱
۵-۸	۲۹۸	۳	۰	۶	۲/۰۱	۹	۳/۰۲
۹-۱۲	۲۱۵	۲	۰/۹۳	۰	۰/۹۳	۴	۱/۸۶
>۱۲	۹۲	۲	۲/۱۷	۱	۱/۰۸	۴	۴/۳۴
تعداد کل	۸۰۰	۹	۱/۱۲	۱۲	۱/۵	۲۶	۳/۲۵

جدول ۲: توزیع فراوانی افراد سرم مثبت به روش آگلوتیناسیون مستقیم (DAT) به تفکیک روستاهای تحت مطالعه شهرستان دلفان در سال ۱۳۹۱-۱۳۹۰

نام روستا	عباراتی بادی			تعداد کل
	≥۱/۳۲۰۰	۱/۱۶۰۰	۱/۸۰۰	
فرهادآباد	۲	۴	۲	۲۳۴
شهن آباد	۱	۱	۱	۹۸
فتاح آباد	۲	۲	۲	۱۲۰
دمیاب	۰	۱	۰	۱۶۰
برخوردار	۴	۲	۴	۱۳۲
هفت چشمه	۰	۲	۰	۵۶

یافته‌ها

بررسی شده ۳/۲۴٪ می‌باشد که ۲/۶٪ نمونه‌ها تیتراژ ۱/۸۰۰ تا ۱/۱۶۰۰ داشته، به عبارتی نشان دهنده مواجهه این افراد با انگل می‌باشد و ۰/۶۲٪ تیتراژ بالای ۱/۳۲۰۰ نشان می‌دهند که بر اساس اطلاعات موجود فقط یک نفر از آنها علائم بالینی داشته و تحت درمان می‌باشد. بر اساس مطالعات انجام شده تقریباً ۹۹٪ موارد عفونت لیشمانیازیس احشایی در بچه‌های زیر ۱۲ سال مشاهده می‌شود (۱۳). در این مطالعه نیز ۸۴/۶۱٪ از افراد سرولوژی مثبت زیر ۱۲ سال سن داشته‌اند. لازم به ذکر است که هیچ مورد مثبت سرمی در گروه سنی زیر یک سال مشاهده نشده است که این مسئله احتمالاً به دلیل تماس کمتر کودکان این گروه سنی با پشه‌های ناقل عفونت و یا به دلیل طولانی بودن دوره کمون بیماری می‌باشد (۲۶). در مطالعه‌ای که چگنی و همکاران در بخش میانکوه شرقی در استان لرستان با روش آگلوتیناسیون مستقیم در سال ۲۰۰۵ انجام دادند، شیوع سرمی را در منطقه تحت بررسی، ۱/۲۶٪ گزارش کردند (۲۶). در مطالعه ترابی و همکاران که در سال ۲۰۰۸ در شهرستان بجنورد انجام شده، در مجموع از ۱۶۰۸ نمونه، ۲۸ مورد (۲/۳٪) دارای عیار ۱/۸۰۰ و ۹ مورد (۰/۵۶٪) دارای عیار بالاتر از ۱/۳۲۰۰ بوده‌اند و حدود ۹۰٪ از موارد سرولوژی مثبت زیر ۱۲ سال و تنها یک نفر بالای ۱۲ سال بوده است که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (۲۷). در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۱۱ توسط محمودوند در شهرستان بافت استان کرمان بر روی ۱۴۷۶ نمونه انسانی انجام شد، ۱۴ مورد (۰/۹۵٪) تیتراژ آنتی بادی ضد لیشمانیایی بالاتر از ۱/۳۲۰۰ داشتند و ۲۳ مورد (۱/۵۵٪) تیتراژی بین ۱/۸۰۰ تا ۱/۱۶۰۰ گزارش شد (۲۸). در مطالعه‌ی حاضر، ۳ نفر (۰/۳۷٪) از موارد سرولوژی مثبت مونث و ۲ مورد (۰/۲۵٪) مذکر بودند، اختلاف معنی‌داری بین دو جنس در این مطالعه یافت نشد که با یافته‌های دیگر محققین نیز همخوانی دارد (۲۸-۲۶). اما در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۴ توسط فخار و همکاران در قاهان قم صورت گرفت از مجموع ۴۱۶ نمونه انسانی شیوع بیماری در جنس مذکر ۲/۲٪ و در جنس مونث ۱/۰۵٪ گزارش شد که اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. این اختلاف می‌تواند به روش نمونه‌گیری، تعداد افراد و وجود یا عدم وجود علائم بالینی مرتبط باشد (۱۵). در مطالعه‌ای که ادریسیان و همکاران در سال ۱۹۹۶ در استان

در مجموع تعداد ۸۰۰ نمونه خون جمع آوری شد. به طوری که از این تعداد ۷۰۸ نمونه (۸۸/۵٪) به گروه سنی زیر ۱۲ سال و ۹۲ مورد (۱۱/۵٪) به بزرگسالان تعلق داشت. در بین نمونه‌های جمع‌آوری شده حداقل سن ۳ ماه و حداکثر ۹۰ سال بود. نتایج حاصل از تست آگلوتیناسیون مستقیم نشان می‌دهد که از مجموع موارد سرولوژی مثبت، جمعا ۲۱ مورد (۲/۶٪) دارای عیار ۱/۸۰۰ تا ۱/۱۶۰۰ بوده‌اند، که از این تعداد بالاترین میزان، ۹ مورد (۱/۱۲٪) مربوط به گروه سنی ۵-۸ سال می‌باشد. علاوه بر این، ۵ نفر (۰/۶۲٪)، دارای عیار بالاتر از ۱/۳۲۰۰ بودند که به ترتیب ۲ و ۱ مورد در گروه سنی ۹-۱۲ سال، زیر ۴ سال و بالای ۱۲ سال می‌باشند، که مورد اخیر، مردی ۲۵ ساله دارای علائم بزرگی شکم و کم‌خونی بوده که با داروی میلنفوسین تحت درمان قرار گرفته است. از مجموع ۵ مورد سرولوژی مثبت ۳ مورد ۰/۳۷٪ مونث و ۲ مورد ۰/۲۵٪ مذکر بودند. هیچ یک از افراد سرم مثبت (تیتراژ بالای ۱/۳۲۰۰)، سابقه‌ی مسافرت به مناطق اندمیک بیماری را نداشته‌اند.

بحث

لیشمانیازیس احشایی از مناطق مختلف ایران به صورت اسپورادیک گزارش شده، اما در مناطقی از شمال غرب و جنوب کشور اندمیک می‌باشد و سالیانه حدود ۱۰۰ تا ۳۰۰ مورد گزارش می‌شود (۱۳). علیرغم اینکه طی سال‌های گذشته موارد تایید شده‌ای از بیماری کالاآزار در مناطق مختلف استان لرستان گزارش شده است (۲۶) ولی وضعیت شیوع بیماری مشخص نیست. این مطالعه در جهت مشخص شدن وضعیت بیماری در شهرستان دلفان، استان لرستان شکل گرفت. در دهه‌های اخیر، تست آگلوتیناسیون مستقیم (DAT) به طور وسیعی جهت مطالعات اپیدمیولوژیک در مناطق اندمیک ایران و سایر نقاط دنیا به کار رفته است و به عنوان روشی معتبر، ساده، دارای حساسیت و ویژگی مطلوب و قابلیت انجام در مطالعات میدانی شناخته شده (۲۸-۲۵ و ۱۱ و ۳)، به‌همین دلیل در مطالعه حاضر هم از این روش استفاده شد. نتایج این مطالعه که طی سال‌های ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ برای اولین بار در شهرستان دلفان انجام شده، نشان می‌دهد که شیوع سرمی بیماری در بین ۸۰۰ نمونه‌ی

خواهد بود. بدیهی است که آگاهی پزشکان منطقه از علائم بالینی و لزوم استفاده از تست DAT بسیار کمک کننده خواهد بود.

تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت مالی مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید بهشتی (شماره طرح ۰۴۲۲/۴۸۲) انجام پذیرفته است. لازم است از همکاری‌های بی دریغ مدیران و کارکنان مراکز بهداشتی شهرستان دلفان، آقای منصوری، آقای گرائیان و سرکار خانم سجادی مسئول محترم آزمایشگاه‌های بهداشتی شبکه بهداشت و درمان شهرستان دلفان، مدیریت و کارکنان محترم آزمایشگاه بیمارستان ابن سینای خلیفه‌آباد نورآباد، مدیریت و نیز کارکنان محترم آزمایشگاه بیمارستان شهید مدنی خرم‌آباد به ویژه جناب آقای سبزواری تشکر و قدردانی گردد. هم چنین نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از همکاری مدیران، مربیان و کارکنان مدارس مناطق تحت بررسی که نهایت همکاری را با ما داشته‌اند، بالاخص خانم محمدخانی که انجام این تحقیق بدون وجود آنها میسر نبود، تشکر نمایند.

References

1. Ashford RSB. *Ecology and epidemiology: old world. The leishmaniasis in Biology and Medicine*. 1st ed. London, Academic Press, 1987; PP: 180-220.
2. Nadim A, Javadian E, Zamenmomeni A, Mohebbali M. *Leishmania and Leishmaniasis*. 2nd ed. Tehran, Tehran University Publication Center, 2008; PP: 192-198.
3. Ardehali S, Rezaei H, Nadim A. *Leishmania parasite and Leishmaniasis*. 1st ed. Tehran: Tehran University Publication Center, 1994; PP: 10-18.
4. Cohen C, Corazza F, De Mol P, Brasseur D. Leishmaniasis acquired in Belgium. *Lancet* 1991; **338**(8759): 128-132.
5. Kubar J, Quaranta JF, Marty P, Lelievre A, Le Fichoux Y, Aufeuve JP. Transmission of *L. infantum* by blood donors. *Nat Med* 1997; **3**(4): 368-369.
6. Singh S, Chaudhry VP, Wali JP. Transfusion-transmitted kala-azar in India. *Transfusion* 1996; **36**(9): 848-849.
7. Fichoux Y, Quaranta JF, Aufeuve JP, Lelievre A, Marty P, Suffia I, et.al. Occurrence of *Leishmania infantum* parasitemia in asymptomatic blood donors living in an area of endemicity in southern France. *J Clin Microbiol* 1999; **37**(6): 1953-1957.
8. WHO. Control of Leishmaniasis, Report of a WHO Expert Committee World Health Organization Geneva 2010.
9. Mohebbali 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; **129**(3): 243-251.
10. Alvar J, Velez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et.al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One* 2012; **7**(5): 250-254.
11. Mohebbali M, Edrissan GH H, 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. *Iran J Parasitol* 2006; **1**(1): 15-25.
12. Mohebbali M. Epidemiological status of Visceral Leishmaniasis in Iran: Experiences and review of literature. *J Clinic Experiment pathol* 2012; **S3**. available from: <http://dx.Doi.org/10.4172/21561-0681.S3-003>.
13. Mohebbali M. Visceral leishmaniasis in Iran: Review of the Epidemiological and Clinical Features. *Iran J Parasitol* 2013; **8**: 348-358.
14. Mohebbali M, Hmzavi Y, Edrissan GH. Seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis in Bushehr province, south of I.R. Iran. *East Medit Health J* 2001; **7**: 912-917.
15. Fakhari M, Mohebbali M, Barani M, Forouzani A. Identification of endemic focus of kala azar and seroepidemiological study of visceral leishmaniasis infection in human and canine in qom province. *Armaghane- Danesh* 2004; **52**: 33-43 (Persian).
16. Edrissan GH, Nadim A, Alborzi A, Ardehali S. Visceral leishmaniasis; the Iranian experience. *Arch Iran Med* 1998; **1**(1): 22-26.
17. Edrissan GH H. Visceral leishmaniasis in Iran and the role of serological tests in the diagnosis and epidemiological studies. *CAB International* 1996; **2**: 97-108.
18. Magill AJ, Grogil M, Gasser RA, Jr., Sun W, Oster CN. Visceral infection caused by *Leishmania*

- tropica* in veterans of Operation Desert Storm. *N Engl J Med* 1993; **13**(19): 1383-1387.
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. *Clin Infect Dis* 2012; **55**(4): 543-550.
 20. Markell E, John D, Krotoski W. *Medical parasitology*. 9th ed. Philadelphia, Saunders Elsevier, 2006; PP: 107-195.
 21. Edrissan GH H. Kala-azar in Iran. *Med J Islamic Rep Iran* 1990; **4**(3): 233-238.
 22. EI Hassan AM. *The Leishmaniasis. Protozoal disease*. 1st ed. London, Arnold, 1999; PP: 413-489.
 23. Bimal S, Das VN, Sinha PK, Gupta AK, Verma N, Ranjan A, et.al. Usefulness of the direct agglutination test in the early detection of subclinical *Leishmania donovani* infection: a community-based study. *Ann Trop Med Parasitol* 2005; **99**(8): 743-749.
 24. Singh R, Subba Raju BV, Jain RK, Salotra P. Potential of direct agglutination test based on promastigote and amastigote antigens for serodiagnosis of post-kala-azar dermal leishmaniasis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005; **12**(10): 1191-1194.
 25. Cardoso L, Rodrigues M, Santos H, Schoone GJ, Carreta P, Varejao E, et.al. Sero-epidemiological study of canine *Leishmania* spp. infection in the municipality of Alijo (Alto Douro, Portugal). *Vet Parasitol* 2004; **121**(1-2): 21-32.
 26. Chegeni Sharafi A, Ourmazdi H, Mohebbali 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). *YAFT-E* 2006; **7**(26): 31-35.
 27. Torabi V, Mohebbali M, Akhoundi B, Hajjaran H, Keshavarz H, et.al. Sero-epidemiological study of visceral leishmaniasis in Bojnourd District (North Khorasan province) by DAT. *Iran J Epidemiol* 2008; **4**: 43-50.
 28. Mahmoudvand H, Mohebbali 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 J Parasitol* 2011; **6**(1): 1-11.
 29. Sharma MC, Gupta AK, Saran R, Sinha SP. The effect of age and sex on incidence of kala-azar. *J Commun Dis* 1990; **22**(4): 277-278.