

لیشمانیوز احشائی سگ‌های کرج و حومه: بررسی بالینی، پارازیتولوژی و سرولوژی سگ‌های ارجاعی به بیمارستان دانشکده دامپزشکی



مهدی مجبلی^۱، حمیدرضا نجفیان^{۲*}، بهناز آخوندی^۱

JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

۱- گروه انگل‌شناسی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران

سال اول، شماره چهارم، پائیز ۱۳۸۹

۲- آزمایشگاه تشخیص بیمارستان شماره ۲ دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

صفحات ۲۲۰-۲۱۳

* نویسنده مسئول: najafian1350@yahoo.com

چکیده

لیشمانیوز احشائی (leishmaniasis Visceral) نوع مدیترانه ای یکی از مهمترین و خطرناکترین بیماریهای مشترک انسان و حیوان است. لیشمانیوز احشائی نوع مدیترانه ای اغلب یک بیماری شدید و کشنده است که بوسیله پشه‌های حاکی جنس فلوتوموس از سگی به سگ دیگر منتقل می شود. سگ مخزن قطعی لیشمانیا اینفانتوم است که خود نیز دچار عوارض ناشی از ابتلاء به آن می شود اما تا مدتی پس از آلودگی به انگل، علائم بالینی بیماری را نشان نداده و حتی پس از بروز علائم بالینی نیز این علائم اختصاصی نیستند. طبق بررسی‌های انجام شده شایعترین علامت بالینی در سگ‌های مبتلا به لیشمانیوز احشائی، زخمهای جلدی است که در ۵۶٪ تا ۹۰٪ موارد دیده می شود. در این بررسی در طی ۳ سال از میان ۵۰۳ قلاده سگ ارجاعی به بیمارستان دامپزشکی وابسته به دانشگاه آزاد واحد کرج، ۱۷ قلاده سگ دارای علائم بالینی مشکوک به کالآزار شامل زخمهای جلدی، خونریزی از بینی، لاغری و بی اشتها، بزرگی کبد - طحال، تورم غدد لنفاوی، لنگش و کراتیت مورد بررسی پارازیتولوژی و سپس بررسی سرولوژی با استفاده از تست آگلوتیناسیون مستقیم (DAT) قرار گرفتند و در نهایت ۱۰ قلاده سگ مبتلا به کالآزار تشخیص داده شدند. نتایج این بررسی نشان داد که توجه به علائم بالینی (حتی با وجود غیر اختصاصی بودن این علائم) و انجام تست DAT می تواند کمک مؤثری برای دامپزشکان در تحلیل درست و تشخیص موارد مشکوک به بیماری کالآزار باشد.

واژه‌های کلیدی: لیشمانیوز احشائی، سگ، علائم بالینی، پارازیتولوژی و سرولوژی، ایران



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res.1(4)213-220,2010

Clinical, parasitological and serologic studies of visceral Leishmaniasis in Karaj and suburbia, referred to the veterinary teaching hospital

Mohebali, M.¹, Najafian, H.^{2*}, Akhondi, B.¹

1. *Diagnosis Laboratory of Veterinary Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Karaj Branch, Iran*

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

**Corresponding Author: najafian1350@yahoo.com*

Mediterranean visceral leishmaniasis is one of the most important and dangerous zoonotic diseases that affect people and domestic dogs. It is a severe, often fatal disease spread from dog-to-dog by sand fly bite. Dogs are considered the main reservoirs for *Leishmania infantum* infection and they can display illness signs too. The prevalence of cutaneous lesions in dogs with symptomatic leishmaniasis ranges between 56% to 90%. In the present investigation, a total of 503 dogs were referred to the veterinary medicine hospital Islamic azad university- Karaj branch during a three-year study, 17 dogs suspected for leishmaniasis on the basis of clear clinical signs such as cutaneous lesions, epistaxis, weight loss, anorexia, hepatomegaly and splenomegaly, lameness, and keratitis. In this group of dogs, presence of leishmaniasis has been confirmed by parasitological and direct agglutination test (DAT) in ten dogs. We could conclude that the presence of clinical signs and direct agglutination test are valuable diagnostic tools for practitioners when visceral leishmaniasis is suspected.

Key words: *visceral Leishmaniasis, dog, clinical signs, serology, parasitology, Iran*

مقدمه

لیشمانیوز احشائی (VL) یکی از مهمترین و خطرناکترین بیماریهای مشترک انسان و حیوان است که در صورت عدم درمان، بیش از ۹۰٪ مرگ و میر به همراه خواهد داشت. جنس لیشمانیا به دو زیرجنس لیشمانیا و ویانیا (Viannia) تقسیم می شود که این طبقه بندی بر اساس رشد انگل در روده قدامی و میانی پشه خاکی در زیرجنس لیشمانیا و رشد انگل در روده میانی و خلفی پشه خاکی در زیرجنس ویانیا است (۱). حداقل سه گونه لیشمانیا دونووانی کمپلکس می توانند موجب لیشمانیوز احشائی شوند (دونووانی- اینفانتوم- آرکی بالدی) که از نظر بالینی، بیوشیمیایی و انتشار جغرافیایی از یکدیگر مستقل هستند (۲). در آمریکا عامل لیشمانیوز احشائی، لیشمانیا شاگاسی بوده که چون از نظر خصوصیات ایزوآنزیمی بسیار شبیه به لیشمانیا اینفانتوم است، آن را تحت عنوان لیشمانیا اینفانتوم نیز نامگذاری می کنند (۱).

لیشمانیا اینفانتوم مهمترین عامل لیشمانیوز احشائی نوع مدیترانه ای و عامل اصلی لیشمانیوز احشائی در ایران بوده و سگ های اهلی مخزن قطعی و پشه های خاکی زیرجنس لاریسیوس ناقلین اصلی انگل هستند (۵). این انگل در مناطق مختلف ایران از سگ، روباه، شغال و اخیراً گرگ جدا شده است (۱). سگ مبتلا به VL نسبت به درمان دارویی مقاومت نشان می دهد و بدلیل مقاومت نسبی سگ به انگل؛ زمینه برای انتشار هرچه بیشتر لیشمانیا در محیط فراهم می گردد. بهترین راه مبارزه با VL، شناسایی سگ های آلوده به انگل و حذف آنها است به طوری که کشف سریع VL سگ اهمیت زیادی در کنترل VL انسان دارد (۷). اما بدلیل تأخیر در بروز علائم بالینی شایع و غیرشایع بیماری (بیماری لیشمانیازیس به طور آهسته پیشرفت می نماید و حتی می تواند هفت سال ادامه یابد تا علائم بالینی آن آشکار شود) و نیز غیراختصاصی بودن این علائم؛ VL در سگ به راحتی از دید دامپزشک معالج پنهان می ماند (۶). از جمله علائم شایع VL که در ۹۰٪

از سگ های آلوده به انگل دیده می شود زخم های جلدی است که معمولاً در فقدان دیگر علائم بالینی لیشمانیا بروز کرده و به راحتی با سایر عفونت ها اشتباه می شود (۳). لذا با مطالعه و بررسی علائم بالینی غیراختصاصی مانند زخم جلدی، لنگش، لاغری و بی اشتها، خونریزی از بینی، تورم غدد لنفاوی فک و کشاله ران و بزرگی کبد و طحال و سپس تأیید تشخیص براساس بررسی پارازیتولوژی و سرولوژی به عنوان روش های تشخیصی مهم و مطمئن، VL به عنوان یکی از بیماریهای دارای این علائم بالینی مطرح گردید.

روش کار

۱- بررسی علائم بالینی:

در این مطالعه طی سه سال از میان ۳۰۵ قلاده سگ ارجاعی به بیمارستان دامپزشکی، ۷۱ قلاده سگ مشکوک به لیشمانیوز احشائی غربال شده و مورد بررسی پارازیتولوژی و در نهایت بررسی سرولوژی قرار گرفتند. علائم بالینی مورد بررسی عبارتست از:

(۱) زخم های جلدی (۲ کراتیت (۳ لاغری و بی اشتها (۴ خونریزی از بینی (۵ بررسی تورم غدد لنفاوی فک و کشاله ران با استفاده از ملامسه (۶ بررسی بزرگی کبد و طحال با استفاده از رادیوگرافی (۷ لنگش ملاک ورود موارد مشکوک لیشمانیوز احشائی به مطالعه، مشاهده زخم جلدی و یا دو علامت از علائم بالینی غیراختصاصی مورد نظر بوده است.

۲- بررسی پارازیتولوژی:

(۱) بوسیله اسکالپل حاشیه زخم جلدی آنقدر تراشیده شد تا زخم دچار خونریزی گردید. سپس از حاشیه زخم نمونه برداری و بر روی لام گسترش تهیه گردید. (۲) در صورت وجود سابقه خونریزی از بینی، با استفاده از سواپ پنبه ای استریل از مخاط بینی نمونه برداری انجام گرفته و بر روی لام گسترش تهیه گردید.

۳) در صورت امکان از اسپیره غدد لنفاوی و یا پونکسیون مغزاستخوان بر روی لام گسترش تهیه گردید.

گسترش‌های تهیه شده از زخم جلدی، مخاط بینی، غدد لنفاوی و مغز استخوان پس از خشک شدن در حرارت آزمایشگاه، با متانول فیکس شده و با استفاده از رنگ گیمسای ۵٪، به مدت ۰۳ الی ۵۴ دقیقه رنگ آمیزی و از نظر وجود آماستیگوت انگل مورد بررسی قرار گرفتند.

۳- بررسی سرولوژی:

در حال حاضر حساسیت و ویژگی تست DAT Direct Agglutination Test نسبت به سایر روشهای سرولوژی تشخیص VL برتری داشته و لذا جهت تشخیص و نیز بررسی سرواپیدمیولوژی VL در انسان و مخازن حیوانی و بویژه سگ استفاده می‌شود (۸و۱). در این مطالعه نیز جهت تأیید تشخیص از تست آگلوتیناسیون مستقیم استفاده شده است. در این تست آنتی ژن انگل با رقت‌های مختلفی از سرم مجاورت داده می‌شود و در صورت وجود آنتی بادی اختصاصی ضد آنتی ژن انگل، آگلوتیناسیون اتفاق افتاده که نشان دهنده واکنش آنتی ژن- آنتی بادی است. در تست DAT تیترا آنتی بادی بالاتر از ۱/۳۲۰ نشان‌دهنده مثبت بودن VL در سگ مورد آزمایش است (۹).

تمامی آزمایش‌های سرولوژی آگلوتیناسیون مستقیم در آزمایشگاه لیشمانیوز گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گردید.

نتایج

از میان ۳۰۵ قلابه سگ ارجاع شده به بیمارستان دامپزشکی در طی سالهای ۶۸-۸۸۳۱، تعداد ۷۱ قلابه سگ دارای زخم‌های جلدی و یا دارای حداقل دو علامت از علائم بالینی مشکوک به لیشمانیوز احشائی بوده و وارد این مطالعه شدند (جدول ۱).

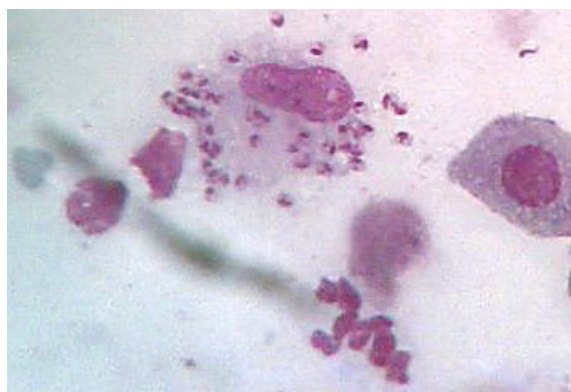
آماستیگوت‌های لیشمانیا در لامهای گسترش مستقیم تهیه

شده از بینی سگ‌های مبتلا به خونریزی از بینی مشاهده گردید (تصویر ۱).

آماستیگوت‌های لیشمانیا در لامهای گسترش مستقیم تهیه شده از اسپیره غدد لنفاوی و پونکسیون مغزاستخوان دو قلابه سگ مشاهده شدند.

زخم‌های جلدی در ۵۱ قلابه سگ مشاهده شد اما در گسترش‌های مستقیم تهیه شده از حاشیه این زخم‌ها هیچ آماستیگوتی یافت نشد.

از نظر سرولوژی خون سگ‌های مشکوک آلوده به VL با استفاده از تست DAT بررسی شدند که از بین ۱۷ قلابه سگ مشکوک، ۱۰ قلابه از نظر سرولوژی مبتلا به VL تشخیص داده شدند که همزمان ۸ قلابه سگ دارای زخم جلدی (تصویر ۳)، ۷ قلابه سگ دچار لاغری و بی اشتها، ۲ قلابه سگ دارای لنگش، ۳ قلابه سگ دارای بزرگی کبد یاطحال (تصویر ۲)، ۱ قلابه سگ دارای کراتیت، ۲ قلابه سگ دارای خونریزی از بینی و ۲ قلابه سگ دارای تورم غدد لنفاری بودند (نمودار ۱).



تصویر ۱- آماستیگوت‌های جدا شده از مخاط بینی سگ مبتلا به خونریزی از بینی



تصویر ۳- زخم جلدی در سگ های مبتلا به لیشمانیوز احشائی

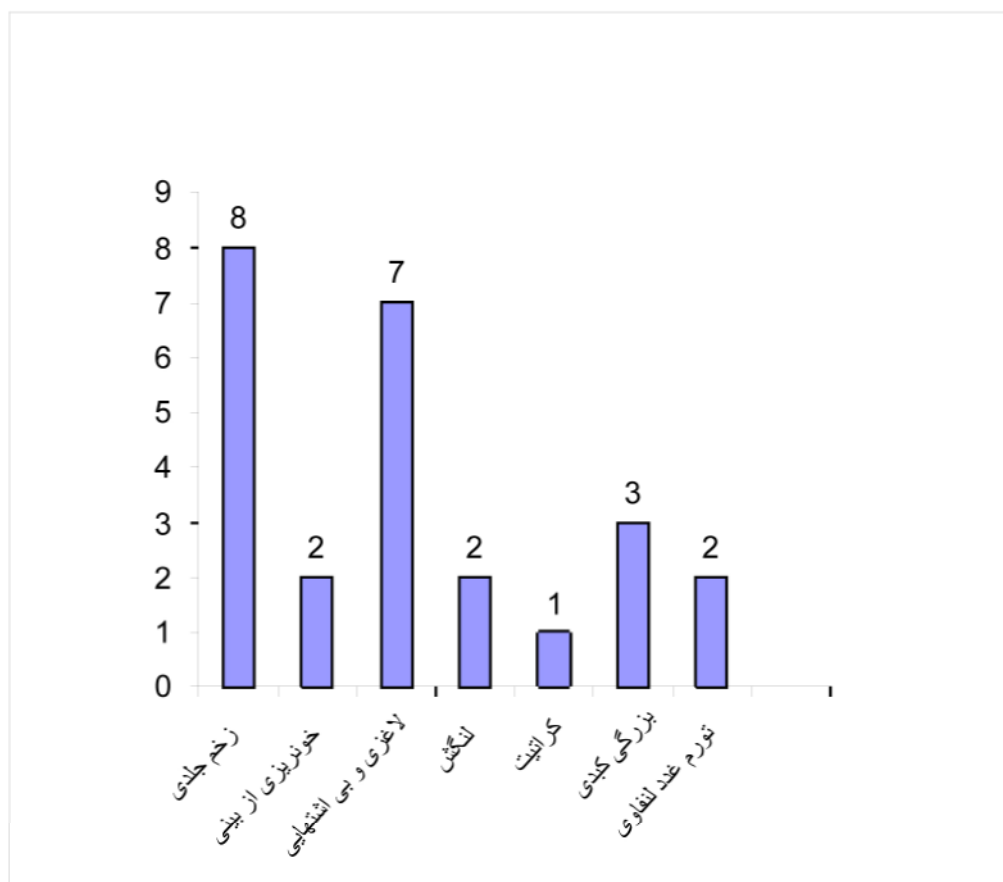


تصویر ۲- طحال بزرگ در تصویر رادیولوژی از سگ مبتلا به لیشمانیوز احشائی

جدول ۱- نتایج بررسی علائم بالینی، پارازیتولوژی و سرولوژی ۱۷ قلاده سگ مشکوک به لیشمانیوز احشائی

شماره سگ	علائم بالینی - محل سکونت	بررسی پارازیتولوژی	تست DAT
۱	زخم جلدی، خونریزی از بینی - اشتهازد	مشاهده انگل در گسترش تهیه شده از مخاط بینی	۱/۱۲۸۰
۲	زخم جلدی، لاغری، بی اشتهایی، لنگش - فردیس	مشاهده انگل در بیوپسی از غده لنفاوی و مغز استخوان	۱/۵۱۲۰
۳	زخم جلدی	منفی	منفی
۴	زخم جلدی	منفی	منفی
۵	خونریزی از بینی، بزرگی طحال - انتقالی از استان کردستان به منطقه کردان	مشاهده انگل در گسترش تهیه شده از مخاط بینی	۱/۱۲۸۰
۶	زخم جلدی - مهرشهر (سگ ولگرد)	منفی	۱/۲۰۴۸۰
۷	لاغری و بی اشتهایی، بزرگی کبد و طحال - مهرشهر	منفی	۱/۲۰۴۸۰
۸	زخم جلدی، لاغری، بی اشتهایی - ملارد	منفی	۱/۲۵۶۰
۹	زخم جلدی، لاغری، بی اشتهایی، بزرگی شدگی کبد - مهرشهر	مشاهده انگل در بیوپسی غده لنفاوی و مغز استخوان	۱/۲۵۶۰
۱۰	زخم جلدی	منفی	منفی
۱۱	زخم جلدی	منفی	منفی
۱۲	زخم جلدی	منفی	منفی
۱۳	زخم جلدی	منفی	منفی
۱۴	زخم جلدی، لاغری و بی اشتهایی، کراتیت، لنگش، تورم غدد لنفاوی - پل کلاک	منفی	۱/۲۰۴۸۰
۱۵	زخم جلدی، لاغری، بی اشتهایی	منفی	منفی
۱۶	زخم جلدی، لاغری، بی اشتهایی، تورم غدد لنفاوی - هشتگرد	منفی	۱/۱۰۲۴۰
۱۷	زخم جلدی، لاغری، بی اشتهایی - کردان	منفی	۱/۱۰۲۴۰

نمودار ۱- توزیع تعداد موارد علائم بالینی مشاهده شده در ۱۷* قلاده سگ مشکوک به لیشرمانیوز احشائی



*از ۱۷ قلاده سگ علامت دار، ۱۰ قلاده دارای تست DAT مثبت بودند.

بحث و نتیجه‌گیری

ارجاع شدند که ۱۷ قلاده سگ دارای علائم بالینی زخم جلدی، لاغری و بی اشتهايي، لنفودنوپاتی، بزرگی کبد و طحال، لنگش و کراتیت و مشکوک به VL تشخیص داده شده و مورد بررسی پارازیتولوژی و سرولوژی قرار گرفتند که ۱۰ قلاده سگ (سگهای شماره ۱۶، ۱۴، ۹، ۷، ۸، ۶، ۵، ۲، ۱ و ۱۷) مبتلا به VL بوده اند. محل نگهداری اولین سگ منطقه اشتهازد و دلیل مراجعه به بیمارستان، خونریزی از بینی بوده است. محل نگهداری سگ شماره ۲ فردیس و دلیل مراجعه لنگش، لاغری و بی اشتهايي و زخم‌های جلدی بوده است. علت مراجعه پنجمین سگ که از استان کردستان به منطقه کردان منتقل شده بود اووتیت و خونریزی از بینی بوده است. سگ ولگرد منطقه مهرشهر ششمین سگ و دارای عوارض گوارشی، تنفسی و زخم صورت (تصویر ۳) و سگ‌های

درایران عامل VL تک یاخته لیشرمانیا اینفانتوم و مهمترین ناقل آن پشه‌های خاکی گونه فلبوتوموس کندلاکی هستند. پشه‌های خاکی در فصول گرم سال دارای بیشترین فعالیت خونخواری بوده و در طی زمان خونخواری می‌توانند به فرم آماستیگوت انگل آلوده شوند. فرم آماستیگوت انگل در لوله گوارشی پشه خاکی در طی ۷۲-۲۴ ساعت به فرم پرومستیگوت که فرمی تاژکدار است تبدیل شده و تکثیر می‌یابد و با خونخواری مجدد پشه خاکی و انتقال پرومستیگوت‌ها به سگ، موارد جدید ابتلا به VL ایجاد شده و علائم کلینیکی آن بویژه در فصول پائیز و زمستان مشاهده می‌شود. از پائیز سال ۱۳۸۶ تا پایان فصل زمستان سال ۱۳۸۸ تعداد ۵۰۳ قلاده سگ بیمار به بیمارستان دامپزشکی

۴) انتقال سگ از مناطق آلوده به دیگر مناطق یکی از دلایل گسترش آلودگی لیشمانیا است.
۵) نتایج بررسی نشاندهنده روند روبه گسترش انتشار VL در سطح استان البرز (کرج و حومه) است.
چون بروز علائم کلینیکی گوناگون و غیراختصاصی در VL و نیز دور از ذهن بودن امکان وجود انگل در مناطق غیر آندمیک باعث پنهان ماندن این بیماری از نظرها می شود، لازم است به دامپزشکان آگاهی بیشتری در برخورد با علائم بالینی VL داده شود تا در تشخیص کلینیکی خود، امکان وجود VL را به عنوان یکی از عوامل ایجاد کننده این علائم بالینی مد نظر قرار دهند.

منابع

- ۱) ادریسیان غ، رضائیان م، قربانی م، کشاورز ح، محبعلی، م. (۱۳۸۶) تک یاخته شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران. صفحه: ۲۶۰-۲۶۵
- ۲) مارکل، ادوارد، تی. جان دیوید، کروتسکی، وج ساچی آ. (۱۳۸۰) انگل شناسی پزشکی مارکل، ویراست هشتم، موسسه فرهنگی انتشاراتی تیمورزاده، نشرطبیب. صفحه: ۱۴۰-۱۴۴
- 3) Ashford D.A., David J.R., Freire M., David R (1998) Studies on control of visceral leishmaniasis: impact of dog. Control on canine and human visceral leishmaniasis in Jacobin Bahia, Brazil. Am J Trop Med Hyg (59)53-57
- 4) Craing E.G (1998) Infectious diseases of the dog and cat. W.B. Saunders Company. pp:450-7
- 5) Desjeux P (1996) Leishmaniasis: Public health aspects and control. Clin Dermatol (14)417-423
- 6) Macconkey S.E., Lopez A., Shaw D., Calder J (2002) leishmanial polyarthrititis in a dog. Canine Vet J (43) 607-609

هفتم و نهم نیز از همین منطقه و دارای علائم لاغری و بی اشتهاپی و زخمهای جلدی بوده اند. هشتمین سگ متعلق به منطقه ملارد و دارای علائم لاغری و زخمهای جلدی متعدد بوده است. از ۱۰ قلاده سگ مبتلا به VL، ۷ قلاده سگ دارای علائم لاغری و بی اشتهاپی بوده اند و فقط در دو قلاده سگ لنگش و در یک قلاده سگ کراتیت مشاهده شد و اندازه غدد لنفاوی فک و کشاله ران در دو قلاده سگ طبیعی نبوده است. بزرگی کبد و طحال در ۳ قلاده سگ و زخمهای جلدی در ۸ قلاده سگ مشاهده گردید که در گسترش مستقیم تهیه شده از این زخمها، انگل یافت نشد اما در ۲ قلاده سگ مبتلا به خونریزی از بینی، ماکروفاژهای پر از اشکال آماستیگوت لیشمانیا مشاهده شدند. در تست DAT تیترا آنتی بادی ۱/۳۲۰ و بالاتر نشاندهنده ابتلا سگ به VL است بطوری که در این بررسی نیز کمترین تیترا مثبت آنتی بادی به سگ شماره ۱ با تیترا ۱/۱۲۸۰ متعلق بوده است. در بررسی که بر روی علائم کلینیکی ۸۰ قلاده سگ مبتلا به VL انجام شده است، فراوانی لنفودنوپاتی ۹۰٪، زخم جلدی ۸۹٪، لاغری و بی اشتهاپی ۶۴٪، لنگش ۳۷٪، طحال بزرگ ۳۲٪ و خونریزی از بینی ۱۵٪ بوده است که در مقایسه با فراوانی علائم بالینی VL در ۱۰ قلاده سگ مورد مطالعه که عبارت بودند از لنفودنوپاتی ۲۰٪، زخم جلدی ۸۰٪، لاغری ۷۰٪، لنگش ۲۰٪، طحال بزرگ ۳۰٪ و خونریزی از بینی ۲۰٪، نتایج هر دو بررسی بجز در لنفودنوپاتی، در سایر علائم کلینیکی به یکدیگر نزدیک بوده اند (۴).

با بررسی های انجام شده بر روی ۱۷ قلاده سگ مورد مطالعه این نتایج بدست آمد:

- ۱) تست DAT مثبت و مشاهده آماستیگوت انگل تأیید کننده تشخیص هستند.
- ۲) در صورت دقت، امکان جدا سازی انگل از مخاط بینی سگهای مبتلا به خونریزی از بینی وجود دارد.
- ۳) علائم بالینی غیرشایع و زمان بروز این علائم، پیش آگاهی مناسبی از احتمال ابتلا به VL می دهند.

- 7) Moshfe A., Mohebali M., Edrissian H., Akhoundi B
(2008) Seroepidemiological study on canine visceral leishmaniasis in Meshkin-shahr. District during 2006-8. Iranian journal of parasitology 3 (3) 1-10
- 8) Mohebali M., Hajjaran H., Mobedi I (2005) Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniasis in the Islamic Republic of Iran. Vet parasitol (129) 243-5
- 9) Mohebali M, Edrissian GhH, Nadim A, Hajjaran H, Akhoundi B, Hooshmand B, Zarei Z, Arshi Sh, Mirsamadi N, Manouchehri Naeini K, Mamishi S, Sanati AA, Moshfe AA, Charehdar S, Fakhar M (2006) Application of Direct Agglutination Test (DAT) for the Diagnosis and Seroepidemiological Studies of Visceral Leishmaniasis in Iran. Iranian Journal of Parasitology 1(1) 15-25