

موضوع: انگل شناسی

گونه‌های لیشمانیوز پوستی

لیشمانیوز یک بیماری عفونی مشترک بین انسان و حیوان است که عامل آن گونه‌های مختلف جنس *Leishmania* می‌باشد. این بیماری توسط نیش پشه خاکی انتقال پیدا می‌کند. امروزه با وجود پیشرفت‌های فراوانی که در زمینه‌ی کنترل بیماری‌های عفونی حاصل شده است، بعضی بیماری‌ها بصورت معضل بهداشتی باقی مانده‌اند. در این میان، لیشمانیوز که در شمار بیماری‌های انگلی دسته‌بندی شده است، نیز در بسیاری از نقاط جهان به عنوان یک مشکل بزرگ بهداشتی مطرح می‌باشد. میزان بروز سالیانه بیماری در دنیا 1/5 میلیون برآورد شده است. به همین دلیل سازمان بهداشت جهانی این بیماری را یکی از بیماری‌های انگلی مهم معرفی کرده است.

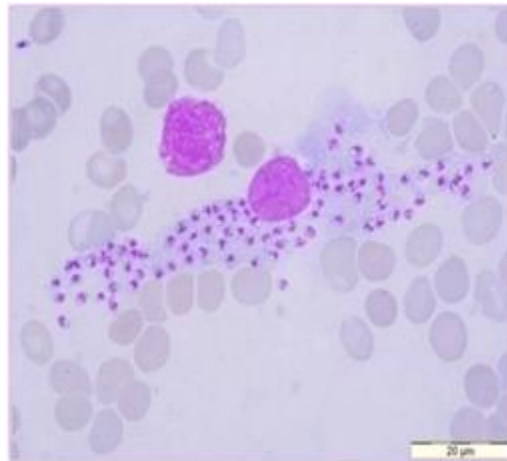
جنس *Leishmania* از خانواده تریپانوزوماتیده است و از نظر تقسیم‌بندی جزء تاژکداران خونی محسوب می‌شود. سابقه این بیماری در ایران طولانی است و در اکثر نقاط ایران دیده می‌شود. به دلیل این که ضایعات خشک، بدون درمان پس از حدود یکسال بهبود می‌یابند، در فارسی به آن سالک می‌گویند.

جنس *Leishmania* در داخل سلول‌های میزبان مهره‌دار به صورت آماستیگوت و در دستگاه گوارش پشه خاکی یا محیط کشت به صورت پروماستیگوت زندگی می‌کند.

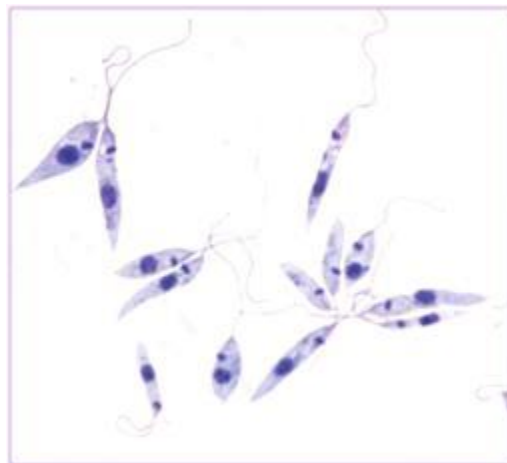
اماستیگوت (جسم لیشمن)[3]: این فرم از انگل، گرد یا بیضی می‌باشد و به صورت غیر متحرک در داخل ماکروفازهای میزبان زندگی می‌کند. شکل(1-1)

پروماستیگوت (لپتوموناد)[4]: این فرم از انگل دوکی شکل، متحرک و تاژک‌دار می‌باشد. انگل در این حالت داخل لوله گوارش پشه خاکی و یا محیط کشت زندگی می‌کند. شکل(1-2)

شکل 1-1: اماستیگوت 1



شکل 1-2: پروماستیگوت



چرخه‌ی زندگی *Leishmania* در دو میزبان مختلف مهره‌دار و بی‌مهره می‌باشد. میزبان بی‌مهره که به عنوان ناقل بیماری مطرح است، همان پشه خاکی ماده می‌باشد.

#### اشکال بالینی لیشمانیوز

لیشمانیوز به سه گروه اصلی پوستی [5](CL) ، پوستی- مخاطی [6](MCL) - و احشایی [7](VL) تقسیم می‌شود. هر سه فرم بیماری توسط گونه‌های متفاوت انگل، با ناقلین و مخازن مختلف و با انتشار جغرافیایی گسترده در مناطق گرمسیری [8] و نیمه گرمسیری [9] دنیا بروز می‌کند.

#### ایمنی در برابر انگل *Leishmania*

در لیشمانیوز پوستی پیشرفت ایمنی حفاظتی، مربوط به تکثیر لنفوسیت‌های T تولید کننده اینترفرون گاما است IFN $\gamma$  ،. ماکروفاژ آلوده را برای از بین بردن انگل توسط نیتریک اکسید (NO) فعال می‌کند. بنابراین التیام در CL وابسته به تکثیر لنفوسیت های Th 1 می‌باشد.

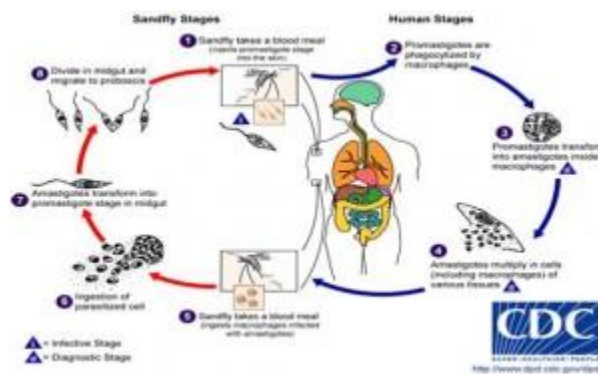
#### چرخه‌ی زندگی انگل *Leishmania*

چرخه‌ی زندگی *Leishmania* در دو مرحله و دو میزبان مختلف یعنی مهره‌دار و بی‌مهره می‌باشد. میزبان بی‌مهره که به عنوان ناقل بیماری مطرح می‌باشد، جنس ماده‌ی پشه خاکی است. پشه خاکی ماده جهت تخم‌گذاری و رشد تخمک خود نیاز به خونخواری دارد که این خونخواری را به صورت متناوب انجام می‌دهد و حوضچه‌های کوچکی را در سطح پوست ایجاد می‌کند. در موقع مکیدن خون بیمار، تعدادی از ماکروفاژهای آلوده به انگل که در پوست وجود دارند را می‌بلعد. این سلول‌ها در قسمت میانی لوله گوارش پشه [11] پاره شده (انگل‌های تحت جنس *Viannia* در روده خلفی پشه خاکی تکثیر می‌یابند) و اجسام *Leishman* آزاد می‌گردند. این اجسام، کم کم تغییر شکل داده، دراز و دوکی شکل می‌گردند و

به شکل پروماستیگوت در می‌آیند. این تغییر شکل در محیط کشت 22 تا 24 ساعت طول می‌کشد که البته در بدن پشه حاکی به مراتب سریع‌تر است. انگل در لوله گوارش پشه به طریق دوتایی تکثیر می‌شود و بوسیله تاژک خود به مخاط آن می‌چسبد. لپتومونادها سپس به قسمت قدامی معده و از آن جا به سوی مری، حلق و ضمام‌دهانی حشره مهاجرت کرده و در آن جا باقی می‌مانند تا در خونخواری بعدی وارد پوست میزبان شوند و گاهی در اثر فراوانی زیاد موجب انسداد مجرای گوارشی و حلق و خرطوم پشه می‌شوند. این مدت زمان در پشه حدود 7 الی 10 روز طول می‌کشد. حال چنانچه پشه‌ی آلوده برای خونخواری شخصی را مورد گزش قرار دهد، همراه بزاق خود تعدادی از این اشکال تاژکدار انگل را داخل پوست میزبان تزریق می‌کند. این پروماستیگوتها توسط سلولهای ماکروماژ فاگوسیت شده و در داخل سیتوپلاسم، تاژک خود را از دست داده، گرد و کوچک می‌شوند و به شکل اماستیگوت در می‌آیند و بدین ترتیب انتقال و سیر تکامل انگل صورت می‌پذیرد. سپس به طریق غیرجنسی (تقسیم دوتایی) تقسیم می‌شوند. در نتیجه‌ی تکثیر و ازدیاد انگل، ماکروفاژ آلوده پاره شده و موجب آزاد شدن تعداد زیادی اماستیگوت می‌شود. سپس مجدداً هر اماستیگوت به ماکروفاژ دیگری حمله می‌کند.

این حالت برحسب نوع گونه‌ی لیشمانیای تزریق شده توسط نیش پشه، متفاوت می‌باشد: 1. در همان محل گزش به وسیله سلولهای نسج مجاور محدود می‌شود و ضایعه لیشمانیوز پوستی بوجود می‌آید. 2. پس از تزریق به نسج مخاطی مجاور گسترش یافته و در آنجا استقرار می‌یابد و لیشمانیوز جلدی - مخاطی به وجود می‌آید. 3. جسم Leishman به وسیله گلبولهای سفید خون مخصوصاً تک هسته‌ای‌های بزرگ [12] بلعیده می‌شود و به سلولهای ماکروفاژ سیستم رتیکولاندوتلیال اعضای مختلف انتشار یافته و لیشمانیوز احشایی حاصل می‌شود.

شکل 3-1: چرخه زندگی انگل Leishmania



جدول 1-1 . مقایسه مشخصات سالک مرطوب و سالک خشک

نوع سالک	سالک مرطوب ( روستایی )	سالک خشک ( شهری )
خصوصیات		
دوره کمون	چند هفته تا چند ماه	2 تا 8 ماه و گاهی بیشتر
گونه انگل	<i>L. major</i>	<i>L. tropica</i>
محل ضایعه	معمولاً روی دست ، پا و صورت	بیشتر روی صورت
تعداد و نوع زخم	تعداد زخم‌ها زیاد می‌باشد و تکروز وسیعی ایجاد می‌کنند.	تعداد ضایعات کمتر و رشد آنها آهسته است
ضایعات پراکنده	تورم گره‌های لنفی و دانه‌های لیشمانیوزی در مسیر رگ‌های لنفی وجود دارد.	ضایعات پراکنده ثانوی نادر است.
برجستگی ضایعه از سطح پوست	برجسته نیست.	برجسته است.

شکل 1-4: زخم لیشمانیوز جلدی مرطوب



شکل 1-5: زخم لیشمانیوز جلدی خشک



معرفی اجمالی شهرستان ورزانه

وجه تسمیه این شهر به این خاطر می‌باشد که ورزندگان که کشاورزان و دامپروران بودند بیشتر در آن جا سکونت داشتند.

این شهر با نام قدیمی ورغنه، مرکز بخش بنرود در فاصله 105 کیلومتری جنوب شرقی شهر اصفهان قرار گرفته است و با 13500 نفر جمعیت و 800 هکتار وسعت، ارتفاع آن از سطح دریا 1475 متر می‌باشد. شهر ورزنه به علت نزدیکی به کویر دارای آب و هوای گرم و خشک است. میزان بارندگی در ورزنه 80 میلی‌متر است. این شهر از لحاظ تاریخچه پیدایش و آثار باستانی، گنجینه‌ای بس غنی دارد و سالانه تعداد زیادی گردشگر را در خود جای می‌دهد.

نزدیکی این شهر به باتلاق گاو خونی، وفور ناقلین در این منطقه را توجیه می‌کند. بررسی گونه‌های شایع انگل واقع در آن منطقه و محاسبه فراوانی آن می‌تواند در تصمیم‌گیری‌های مربوط به کنترل بیماری مفید واقع گردد، که این امر می‌تواند ارزش تاریخی این شهر را از لحاظ حفظ جنبه‌های گردشگری و سلامت شهر ارتقاء دهد.

#### عامل ایجاد سالک در این منطقه

حدود یک و نیم کیلومتر از زهکش منطقه سجزی که یک منطقه صنعتی می‌باشد، از درون ورزنه عبور می‌کند. سپس از سمت شمال وارد رودخانه زاینده‌رود شده و به طرف تالاب بین‌المللی گاوخونی هدایت می‌شود. قسمتهای عبوری زهکش در داخل شهر توسط سازمان آب منطقه‌ای پوشیده شده، اما مسیرهای خروجی آن هنوز سرپاز بوده که محل پرورش موجوداتی چون موش‌ها و پشه‌ها شده است. وجود تپه‌های خاک و درختان "طاق" کاشته شده توسط اداره منابع طبیعی در اطراف این زهکش نیز به این امر کمک می‌کند. ریشه‌ی این نوع درختان محل خوبی برای زندگی این جوندگان است و در طول سه سال اخیر حدود سه هزار نفر از مردم ورزنه به دلیل فعالیت این موجودات دچار بیماری سالک شده‌اند.

#### نقشه موقعیت جغرافیایی شهرستان ورزنه



روش کار:

نمونه‌گیری از حاشیه زخم با استفاده از تیغ بیستوری انجام شد و گستره‌ای از ترشحات اطراف زخم بر روی لام تهیه گردید. بعد از خشک شدن گستره، نمونه با استفاده از متانول فیکس شد و سپس از رنگ گیمسا با رقت 20:1 به مدت 15 تا 20 دقیقه جهت رنگ‌آمیزی استفاده گردید. پس از شستشو، لام‌ها بوسیله میکروسکوپ نوری ابتدا با بزرگنمایی X40 و سپس با بزرگنمایی X100 از نظر وجود اشکال لیشمن یا اماستیگوت در داخل و یا خارج ماکروفاژها مورد بررسی قرار گرفت. (این انگل دارای هسته، کینتوپلاست بوده که با رنگ‌آمیزی گیمسا به رنگ صورتی در می‌آید).

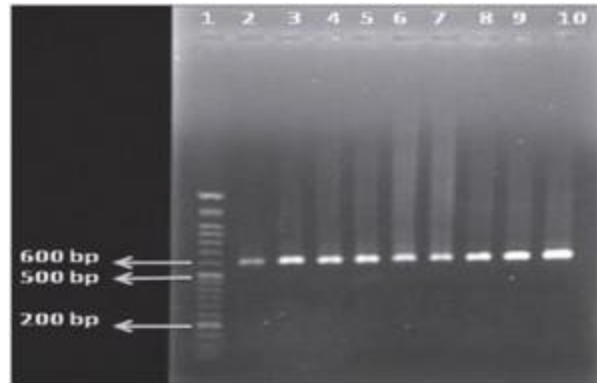
از لام نمونه‌های مثبت جهت استخراج DNA در آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده پزشکی استفاده شد.

در نهایت از روش NESTED-PCR برای تعیین گونه استفاده شد.

نتایج:

در این مطالعه از 186 مورد مشکوک به لیشمانیازیس جلدی مراجعه کننده به مرکز بهداشت ورزنه 50 مورد با استفاده از روش میکروسکوپی و رنگ‌آمیزی گیمسا تایید و مثبت گزارش شدند. این نمونه‌ها سپس با تکنیک Nested-PCR مورد بررسی قرار گرفتند که محصول تمامی آنها در PCR دوم باند 560bp حاصل آلودگی با L.major را نشان دادند. (تصویر 1 و 2).

شکل 1: خط اول Ladder، خط دوم L.major: کنترل مثبت، (IR/75/ER/MRHO)، خطوط 3-10: لیشمانیای جدا شده از بیمار.



شکل 2: خط اول. Ladder. خط-دوم) *L. tropica* :کنترل مثبت، (MHOM/IR/04/Mash 10، خطوط 10-3: لیشمانیا جدا شده از بیمار.



بحث:

لیشمانیوز جلدی در اکثر شهرهای ایران به طور آندمیک دیده می‌شود. اما در دو دهه اخیر سیمای اپیدمیولوژیک لیشمانیوز پوستی در ایران دچار تغییر و تحول شده است. یکی از دلایل این تغییرات می‌تواند ناشی از جابجایی جمعیت بین مناطق روستایی و شهری و افزایش مسافرت‌ها بین مناطق آندمیک و همچنین مهاجرت از کشورهای همسایه باشد. به علت تشابه شکلی گونه‌های انگل، رده‌بندی آن به انواع و سویه‌های متفاوت بسیار مشکل است و شواهد اپیدمیولوژیکی و بالینی نیز به



تنهایی در افتراق میان گونه‌ها کارساز نیستند. امروزه روشهای مولکولی تحول عظیمی در تعیین هویت انگل ایجاد نموده‌اند. در شهرستان ورزنه نیز همانند اکثر مناطق اصفهان، گونه غالب لیشمانیا ماژور تشخیص داده شد.