

بررسی میزان مثبت شدن اسمیر در ۸۰ بیمار مبتلا به سالک مراجعه کننده به بیمارستان ۵۲۰ منطقه ای کرمانشاه در اردیبهشت سال ۱۳۹۴

فاطمه فیروزی^۱، مهدی الفتی^۲، شیوا فرایی^۳، عبدالرضا زاهدی نسب^۴، منصور شهبازی^۵

۱- متخصص بیماری های عفونی و گرمسیری، ایران، کرمانشاه، بیمارستان منطقه ای ۵۲۰، ۲- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، ایران، کرمانشاه، بیمارستان منطقه ای ۵۲۰، (نویسنده مسئول) ۳- متخصص پاتولوژی، ایران، کرمانشاه، بیمارستان منطقه ای ۵۲۰، ۴- دکتری عمومی، کرمانشاه، بیمارستان منطقه ای ۵۲۰، ۵- کارشناس مدیریت دولتی، کرمانشاه، بیمارستان منطقه ای ۵۲۰.

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله مقاله پژوهشی	مقدمه: سالک یکی از بیماری های انگلی شایع در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان بوده و تهدیدی برای سلامت عمومی محسوب می شود. تشخیص بیماری به روش های اسمیر ضایعه پوستی، کشت از ضایعه و PCR صورت می گیرد. طبق تحقیقات انجام گرفته حساسیت مجموع روش های تشخیصی در مطالعات گذشته (۳۳٪) بوده است. به دنبال بروز همه گیری لشمانيوز پوستی، در یکی از یگان های نظامی تابعه بیمارستان، در جریان مأموریت در استان ایلام (مهران)، در پاییز و زمستان ۹۳، یک مطالعه مقطعی (cross sectional) توصیفی روی ۸۰ نفر از مراجعه کنندگان صورت گرفت. هدف از این مطالعه که در اردیبهشت ۹۴ انجام شد، بررسی میزان مثبت شدن اسمیر در ۸۰ بیمار مبتلا به سالک مراجعه کننده به بیمارستان منطقه ای کرمانشاه بود.
تاریخچه مقاله دریافت: ۱۳۹۴/۴/۱۵ پذیرش: ۱۳۹۴/۶/۲۷	روش کار: در این مطالعه از ۸۰ بیمار مبتلا به سالک مراجعه کننده به بیمارستان منطقه ای کرمانشاه، در جریان یک اپیدمی، نمونه اسمیر از ضایعات جلدی تهیه و اطلاعات بیماران مانند سن، مدت اقامت در منطقه اندمیک، فاصله حضور در منطقه اندمیک تا ظهور علائم بیماری و وجود یا عدم وجود علائم همراه، در چک لیست مخصوص مبتلایان به سالک ثبت شد. سپس اطلاعات به دست آمده از بیماران، با نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد. همچنین رابطه بین میزان مثبت شدن اسمیر با فاکتورهای فوق الذکر هم توسط آزمون پیرسون بررسی شد.
کلید واژگان سالک، لشمانيوزیس جلدی، اسمیر.	یافته ها: اسمیر ضایعه در ۸۱٫۲۵٪ از بیماران، مثبت و در ۱۸٫۷۵٪ بیماران باقی مانده منفی گزارش شد که میزان مثبت شدن در مقایسه با کتب مرجع و مطالعات مشابه بیشتر است (۳۳٪).
نویسنده مسئول Email: mehdiolfati37@yahoo.com	نتیجه گیری: نتایج آزمون های آماری نشان داد که میزان مثبت شدن اسمیر ۸۱٫۲۵٪ بوده و هیچ رابطه ای بین میزان مثبت شدن اسمیر و فاصله حضور در منطقه و نیز میزان مثبت شدن اسمیر با مدت حضور افراد در منطقه وجود ندارد. همچنین هیچ رابطه ای بین وجود یا عدم وجود علائم همراه بیماری، مانند درد، خارش و سوزش با میزان مثبت شدن اسمیر ضایعات جلدی وجود ندارد. در این نوع از تشخیص، از روش جدیدی استفاده نشد اما در مقایسه با مطالعات قبلی، حساسیت این روش تشخیصی بالاتر است و باعث افزایش میزان تشخیص های قطعی در مقایسه با تشخیص های احتمالی و پرهیز از اقدامات درمانی غیر ضروری می گردد.

مقدمه

سالک یکی از بیماری های انگلی شایع در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان بوده و تهدیدی برای سلامت عمومی محسوب می شود (۱ و ۲). در منطقه مدیترانه شرقی (ایران، عراق، عربستان سعودی، سودان، تونس، سوریه) یکی از مشکلات بهداشتی قابل توجه می باشد (۳ و ۴). انگل لشمانيوز در فرم آماسیگوت در بدن میزبان مهره دار (انسان یا حیوان) قرار دارد و اغلب در داخل ماکروفاژها یعنی سلول های بیگانه

خوار زندگی می کند. پشه خاکی ماده، با مکیدن خون، انگل را می بلعد و به انسان یا حیوان منتقل می کند (۵). سالک به دو شکل اصلی خشک (شهری) و مرطوب (روستایی) مشاهده می شود. سازمان جهانی بهداشت بیماری لشمانيوز را در ردیف شش بیماری مهم انگلی مناطق گرمسیری دنیا معرفی کرده است (۶). سالک در مناطق مختلف ایران اندمیک است. طبق آمار ارائه شده از طرف اداره کل پیشگیری و مبارزه با بیماری های وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی

میزان بروز لیشمانیوز جلدی در ایران ۳۰ نفر در هر ۱۰۰/۰۰۰ نفر می باشد. در ایران سالانه حدود ۲۰ هزار نفر به سالک مبتلا می شوند (۷). یکی از مهمترین بیماری های پوستی مشترک بین انسان و حیوان است که توسط گزش پشه خاکی به انسان منتقل می شود این بیماری به دلیل شیوع فراوان و انتشار و پراکندگی در نقاط مختلف کشور و ایجاد جوشگاه از اهمیت بالایی برخوردار است (۸).

ضایعات سالک ممکن است به دو شکل دیده شود. شکل خشک و شکل مرطوب، راه های سرایت بیماری: انسان به انسان، حیوان به حیوان، حیوان به انسان و بالعکس می باشد. در سالک شهری یا خشک (Anthropnotic) مخزن بیماری انسان می باشد ولی سگ هم بطور اتفاقی به بیماری مبتلا می گردد. کانون اصلی این بیماری در ایران شهرهای مشهد، اصفهان، نیشابور، شیراز، بم و تهران است.

در لیشمانیوز جلدی نوع روستایی یا مرطوب (Zoonotic) مخزن بیماری عمدتاً جوندگان هستند. انسان بطور تصادفی در چرخه نوع روستایی قرار می گیرد. ۸۰ درصد موارد سالک در کشور از نوع روستایی است. ایلام، خوزستان، سیستان و بلوچستان و نطنز اصفهان، مازندران، بوشهر، هرمزگان و جنوب استان فارس از مناطق اندمیک سالک روستایی کشور هستند. در مطالعات اخیر، استان ایلام از یک منطقه اندمیک به هی پراندیمیک تبدیل شده است. شیوع سالک پوستی روستایی از اواسط پاییز تا اواسط زمستان است. دوره کمون در لیشمانیوز جلدی نوع روستایی کوتاهتر (۴ - ۱ هفته) ولی در لیشمانیوز جلدی نوع (شهری) این دوره طولانی تر است (بطور معمول ۲ تا ۸ ماه و گاهی ۱-۲ سال) (۹).

تشخیص بیماری به روش های اسمیر ضایعه پوستی، کشت از ضایعه و PCR صورت می گیرد. از آنجا که میزان آنتی بادی ایجاد شده در لیشمانیوز پوستی بسیار ناچیز است، سرولوژی، از حساسیت پایینی برخوردار است و ارزشی در تشخیص بیماری ندارد (۱۰).

در آزمایشگاه ۳ نمونه از نقاط مختلف ضایعات جلدی تهیه می شود. بهتراست از بیمارانی که دارای چند ضایعه هستند چند نمونه از ضایعات مختلف گرفته شود. در صورتی که یک نمونه منفی باشد، نمونه دوم یا سوم بررسی می شود. لبه های ملتهب و متورم بیشترین تراکم آماسیگوت ها را دارند. هرچه نمونه بیشتری گرفته شود احتمال مشاهده انگل بیشتر است. رنگ آمیزی به روش گیمسا انجام شده، با میکروسکوپ الکترونی بررسی می گردد. در هرام تا زمان مشاهده جسم لشم، باید حداقل ۳۰ ثان مناسب که دارای سلول های ماکروفاژ باشد بررسی گردد تا شانس مشاهده انگل بیشتر شود. در صورت مشاهده گلبول قرمز فراوان و ندیدن جسم لشم این نمونه مناسب ارزیابی نیست. در صورتی که سه نمونه منفی باشد

ولی شواهد اپیدمیولوژیک، احتمال وجود بیماری را افزایش دهد، نمونه لازم برای کشت گرفته می شود. محیط های کشت ۲-۳ روز در میان تا یک ماه مورد بررسی قرار می گیرند و در صورت عدم مشاهده انگل با میکروسکوپ فاز کنتراست، کشت منفی در نظر گرفته می شود. انجام کشت، وقت گیر و پرهزینه است (۱۱-۱۲).

روش کار

به دنبال بروز همه گیری لیشمانیوز پوستی، در یکی از یگان های نظامی تابعه بیمارستان، در جریان مأموریت در استان ایلام (مهران) در پاییز و زمستان ۹۳، به منظور بررسی میزان مثبت شدن اسمیر ضایعه پوستی، در اردیبهشت ۹۴ یک مطالعه Cross Sectional (توصیفی) روی ۸۰ نفر از مراجعه کنندگان، صورت گرفت.

ابتدا هرگونه آلودگی از محل زخم پاک شده، با اتانول ۷۰ درصد شستشو و استریلیزاسیون انجام می گیرد. پس از خشک شدن الک، اقدام به نمونه گیری می شود. به این ترتیب که با دو انگشت سبابه و شست ضایعه را محکم گرفته، با یک لانست شکافی به عمق یک میلی متر در زخم ایجاد کرده از ترشحات حاصله بر روی لام گسترش تهیه می شود. سپس گسترش تهیه شده را بدون استفاده از شعله و در هوای اتاق خشک کرده و متانول، به مدت ۳۰ تا ۶۰ ثانیه قبل از رنگ آمیزی روی گسترش ریخته می شود. پس از خشک شدن گسترش در مجاورت هوا، رنگ آمیزی به روش گیمسا انجام می شود (۱۴).

لام، با استفاده از عدسی چشمی ۱۰ و عدسی شیئی ۱۰۰ و روغن ایمرسیون و بدون استفاده از لامل، توسط کارشناس آزمایشگاه بررسی و در صورت مشاهده انگل (جسم لشم) جواب مثبت ثبت می گردد؛ در غیر این صورت، لام جهت بررسی بیشتر به پاتولوژیست تحویل شده، در صورت تایید جواب منفی، چندروز بعد گسترش دوم و در صورت لزوم گسترش سوم تهیه و بررسی می شود. در صورت منفی شدن لام سوم، نمونه به عنوان منفی ثبت می شود (۱۵).

یافته ها

نتایج تست اسمیر ۸۱،۲۵٪ از بیماران مراجعه کننده، مثبت و ۱۸،۷۵٪ باقی مانده نیز به صورت منفی کاذب اعلام شد. بررسی کیفی علائم بالینی بیماران، نشان داد که ۴۷،۵٪ از بیماران، فاقد علائم بالینی بودند و در بین علائمی نظیر درد، خارش و یا سوزش، در بیشتر بیماران (۲۸،۷۵٪) خارش، چشمگیرترین علامت بالینی بود. بررسی مدت حضور بیماران در مناطق پرخطر نیز نشان داد که ۶۵٪ از بیماران به مدت ۱۳ الی ۲۰ هفته در مناطق پر خطر حضور داشته اند.

جدول شماره ۱: نتایج تست اسمیر

نتایج تست اسمیر	تعداد +	تعداد -
	۶۵ (/۸۱/۲۵)	۱۵ (/۱۸/۷۵)

جدول شماره ۲: بررسی کیفی علایم بیماری در بیماران مبتلا به سالک

علامت بیماری	تعداد افراد
درد	۴ (/۵)
خارش	۲۳ (/۲۸/۷۵)
درد - خارش	۷ (/۸/۷۵)
سوزش	۵ (/۶/۲۵)
خارش - سوزش	۳ (/۳/۷۵)
بدون علایم	۳۸ (/۴۷/۵)

جدول شماره ۳: مدت حضور در مناطق پرخطر سالک

مدت حضور (هفته)	تعداد بیمار (نفر)
کمتر از ۴ هفته	۴ (/۵)
۵-۸ هفته	۱۳ (/۱۶/۲۵)
۹-۱۲ هفته	۱۱ (/۱۳/۷۵)
۱۳-۱۶ هفته	۲۶ (/۳۲/۵)
۱۷-۲۰ هفته	۲۶ (/۳۲/۵)

بررسی وجود رابطه معنی دار بین میزان مثبت شدن تست اسمیر مبتلایان به سالک با عوامل فیزیکی از جمله مدت حضور بیمار در منطقه پرخطر، فاصله حضور در منطقه پرخطر تا ظهور علایم و همچنین وجود یا عدم وجود علایم بالینی در بیمار، از اهداف فرعی این تحقیق بودند. ابتدا توزیع نرمال داده های مورد آزمون توسط نرم افزار SPSS مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس جهت بررسی همبستگی بین متغیر های مورد آزمایش، از آزمون پیرسون استفاده شد.

ضریب همبستگی پیرسون بین مثبت شدن اسمیر با مدت حضور در منطقه پرخطر، فاصله حضور در منطقه پرخطر تا ظهور علایم بیماری و وجود علایم بیماری، ضرایب همبستگی بین متغیرهای فوق به دلیل نزدیکی به صفر، نشان دهنده این است که بین متغیرهای مورد نظر همبستگی ناچیزی وجود دارد.

بحث و نتیجه گیری

حساسیت روش های تشخیصی در مطالعات گذشته به شرح زیر بوده است. رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین ۱۴٪، ایمپرینت ۱۹٪، کشت ۵۸٪ و ترکیب همه ی روش ها با هم ۶۷٪ (۱۶) و نتایج تست اسمیر ۸۱،۲۵٪ از بیماران مراجعه کننده، مثبت و ۱۸،۷۵٪ باقی مانده نیز به صورت منفی اعلام شد. به علاوه، متداول ترین طول دوره کمون در مبتلایان، به ترتیب ۰ تا ۲ هفته (۴۲،۵٪)، ۲ تا ۴ هفته (۳۶،۲۵٪) و ۶ تا ۸ هفته (۱۲،۵٪) گزارش شد. همچنین مشخص شد که ۵۲٪ از مبتلایان، به مدت ۱۳ الی ۲۰ هفته در مناطق پرخطر حضور داشته اند. نتایج آزمون های آماری نشان داد که هیچ رابطه ای بین مدت حضور افراد در مناطق پرخطر و همچنین فاصله حضور در مناطق پرخطر تا بروز علایم سالک، با میزان مثبت شدن اسمیر وجود ندارد. همچنین وجود یا عدم وجود علایم بیماری، مانند درد، خارش و سوزش هیچ رابطه ای با میزان مثبت شدن آزمایش اسمیر ندارد. پیش از این درمان بیماران بر مبنای شواهد اپیدمیولوژیک انجام می شد اما می توان از اسمیر نیز به عنوان یک ابزار تشخیصی با حساسیت بالا استفاده کرد. بنابراین می توان گفت که اگر چه در حال حاضر بهترین روش تشخیصی جهت لشمانييازيس جلدی، روش PCR می باشد اما با توجه به هزینه بالا و در دسترس نبودن، می توان از روش اسمیر که از حساسیت بالایی برخوردار است به عنوان یک روش با اطمینان بالا استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

از کلیه ی همکاران و عزیزانی که در به ثمر رسیدن این تحقیق ما را یاری نمودند بخصوص ریاست محترم بیمارستان منطقه ای کرمانشاه و همچنین همکاران مستقر در آزمایشگاه بیمارستان منطقه ای کرمانشاه، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

وجود علایم بیماری	فاصله حضور در منطقه پرخطر تا ظهور علایم بیماری	مدت حضور در منطقه پرخطر	مثبت شدن اسمیر
۰/۰۳۸	-۰/۰۳۹	-۰/۰۱۵	

References

- 1-Ihalamulla R.L., Rajapaksa U.S., Karunaweera N.D. Microculture for the isolation of leishmania modified to increase efficacy:a follow-up to a previous study. *Ann.Trop.Med.Parasitol.* 2006, 100:87-89.
- 2-WHO. Control of the Leishmaniasis. Geneva, WHO Technical Report Series. 1990; 793:1-96.
- 3-Ashford RW. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. *Clin Dermatol* 1996; 14(5): 523-532.
- 4-Desjeux P. Leishmaniasis. *Nat Rev Microbiol* 2004;2(9): 692.
- 5-Ardahali S, Rezaei H. and Nadim A. Leishmania and Leishmaniasis. 2th ed. Tehran: Tehran university publication center. 1994 . [Persian].
- 6-Rocha LG, Almeida JR, Macedo RO, Barbosa-Filho JM. A review of natural products with antileishmanial activity. *Phytomedicine* 2005; 12: 514-535.
- 7-Saebi E. Clinical Parasitology: Protozoa diseases in Iran. 5th edition, Aeeizh Publisher, Tehran, Iran. 2010: 223-225.
- 8-MohebAli M. Protozoal zeonoses. Nadi Publisher, 1976: 31-40.
- 9-den Boer M, Argaw D, Jannin J, Alvar J. Leishmaniasis impact and treatment access. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17:1471-77.
- 10-Aleth M, Dubois L. Saponins as immunoadjuvants and immunostimulants. In: Immunomodulatory agents from plants. Wagner H. Mosby; St.Louis: 243-72.
- 11-Murray HW, Berman JD, Davis CR, Saravia NG. Advances in leishmaniasis. *Lancet* 2005; 366(9496): 1561-1577.
- 12-Expert Committee: Control of leishmaniasis. Technical Report Series 793. WHO, Geneva Switzerland, 1990. Avaliable from: [http:// whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_793](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_793)

Determination of the Smear Sensitivity of Cutaneous leishmaniasis In 80 Patients Referred to 520 Hospital

Firooz F (MD), Olfati M (MSc)*, Fariee SH (MSc), Zahedi-Nasab AR (MD, MPH), Shahbazi M (MSc)

Abstract

Introduction: Leishmaniasis, a parasitic disease common in tropical and subtropical regions of the world and is considered a threat to public health. Diagnostic methods are smear, culture, and PCR. Diagnostic sensitivity of the smear method in previous studies is 33%. Following the outbreak of cutaneous leishmaniasis, in one of the military units affiliated hospital, Ilam Province during the mission (Mehran), in the fall and winter 93, a cross-sectional study on 80 patients were described. This study was conducted in the Ordibehesht 94 to determine the amount of smear positivity rate in 80 patients with cutaneous leishmaniasis admitted in regional hospital of Kermanshah.

Method: In this study of 80 patients with cutaneous leishmaniasis regional hospital in Kermanshah, in the course of an epidemic, smear sample volume of waste produced and patient information such as age, length of stay in the endemic region, distance between presence in endemic area and lesion to cause appear, presence or absence of associated symptoms, in patients with cutaneous leishmaniasis were recorded for check list. The data obtained from patients with spss software analysis the relationship between the amount of positive smear Also with the above-mentioned factors was assessed by test of Pearson.

Results: Smear lesions in 81.25% of patients remained positive and negative in 18.75% of patients positivity rate of skin lesion is more in compare with similar studies (33%).

Conclusion: Statistical test results showed more positivity rate of smear (81.25%) and no relationship between the amount of smear positivity rate and the length of presence in the region. Also, there is no relationship between the presence or absence of symptoms, such as pain, itching and burning, with the result of skin smear.

Keywords: cutaneous leishmaniasis, skin smear

*Corresponding author: NEZAJA 520 Military Hospital, Kermanshah, Iran email: mehdiolfati37@yahoo.com.