

## بیماریابی کالآزار با استفاده از روش آگلوتیناسیون مستقیم

دکتر غلامحسین ادریسیان<sup>۱</sup>، دکتر مهدی محبعلی<sup>۱</sup>، هما حجاران<sup>۱</sup>، دکتر شهنام عرشی<sup>۲</sup>، دکتر محمدرضا عطاری<sup>۳</sup>، مهندس عبدالرسول فروزانی<sup>۴</sup>، دکتریدخشان هوشمند<sup>۵</sup>، دکتر قشم سلیمان زاده<sup>۲</sup>، بهناز آخوندی<sup>۱</sup>، دکتر ابوالحسن ندیم<sup>۱</sup>

### چکیده:

در طی دو دهه گذشته، لیشمانوز احشایی (کالآزار) به شکل اندمیک در بعضی از مناطق شمال غرب و جنوب ایران گزارش شده است. عامل این بیماری لیشمانیا اینفانتوم، و مخزن مهم آن در مناطق اندمیک در ایران، سگ است. اکثر موارد کالآزار در بچه های گروه سنی ۱ تا ۴ سال دیده شده است. از آنجایی که تأخیر در تشخیص و درمان کالآزار با مرگ و میر زیاد بیماران همراه است، از سال ۱۳۷۵، بیماریابی با انجام آزمایش سرولوژی آگلوتیناسیون مستقیم در افراد مشکوک به کالآزار و درمان موارد مثبت سرولوژی که دارای علائم بالینی اختصاصی بوده اند، با همکاری مراکز بهداشتی استانهای اردبیل، آذربایجان شرقی و بوشهر شروع شده است.

آنتی ژن آگلوتیناسیون مستقیم در واحد تک یاخته شناسی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی با استفاده از سویه لیشمانیا اینفانتوم جدا شده از یک قلاده سگ آلوده به لیشمانوز احشایی در ایران تهیه شده است. اکثر نمونه های خون تهیه شده از نوک انگشت افراد مشکوک به ابتلای کالآزار در خانه های بهداشت مناطق مذکور گرفته شده و توسط کارشناسان و تکنسینهای آزمایشگاه آموزش دیده در نزدیکترین شهرستان به روش آگلوتیناسیون مستقیم مورد آزمایش قرار گرفته اند. افرادی که دارای پادتن اختصاصی علیه لیشمانیا با عیارهای ۱:۳۲۰۰ و بیشتر بودند و علائم اختصاصی کالآزار را داشتند در مراکز بهداشتی - درمانی که دارای پزشکان مجرب یا متخصصان اطفال بودند معاینه شده و در صورت داشتن علائم بالینی کالآزار تحت درمان قرار گرفته اند. جهت درمان بیماران معمولاً از مگلو مین آنتی مونیت (گلوکانیتیم) به میزان ۲۰ mg/kg به شکل داخل عضلانی روزانه به مدت حداقل ۲۰ روز استفاده شده است.

در این مطالعه در مجموع ۱۹۶۹۳ نمونه سرم یا پلاسماي خون از افراد مشکوک به کالآزار جمع آوری شده از استانهای اردبیل، آذربایجان شرقی و بوشهر به روش آگلوتیناسیون مستقیم مورد آزمایش قرار گرفته اند که ۱۲۷۴ نمونه (۶/۴۷٪) از نظر سرولوژی مثبت و دارای پادتن اختصاصی علیه لیشمانیا با عیارهای ۱:۳۲۰۰ یا بیشتر بوده اند. از موارد مثبت سرولوژی ۶۹۰ نفر (۵۴/۱۶٪) که دارای علائم بالینی کالآزار (بزرگی طحال و کبد، کم خونی...) بودند، تحت درمان اختصاصی قرار گرفتند.

با استفاده از آزمایش سرولوژی آگلوتیناسیون مستقیم در بیماریابی کالآزار، تعداد زیادی از عفونتهای احشایی لیشمانیا خصوصاً در بین بچه های زیر ۱۰ سال تشخیص داده شد و بیماران دارای علائم بالینی اختصاصی تحت درمان قرار گرفتند؛ در نتیجه از موارد مرگ و میر کالآزار در مناطق تحت مطالعه جلوگیری به عمل آمده است.

**واژه گان کلیدی:** بیماریابی، کالآزار، تست آگلوتیناسیون مستقیم، مناطق اندمیک ایران

<sup>۱</sup> گروه انگل شناسی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران، صندوق پستی ۶۴۴۶ - ۱۴۱۵۵، تهران، ایران.

<sup>۲</sup> معاونت بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل.

<sup>۳</sup> معاونت بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی آذربایجان شرقی.

<sup>۴</sup> معاونت بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی آذربایجان بوشهر.

<sup>۵</sup> مرکز مدیریت بیماریها، معاونت سلامت وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی.

## مقدمه :

لیشمانیوز احشایی نوع مدیترانه ای (کالاآزار)، بیماری انگلی سیستمیک است که اگر بموقع تشخیص داده نشود و بیمار به شکل مناسب تحت درمان قرار نگیرد، در اکثر موارد حاد به مرگ بیمار منجر خواهد شد (WHO, 1990). بیش از ۹۰٪ موارد این بیماری در بچه های زیر ۱۲ سال مشاهده می شود (Gilles, 1999). تشخیص آزمایشگاهی کالاآزار در ایران به جز موارد مربوط به مناطق اندمیک که در سالهای اخیر بیشتر از روشهای سرولوژی استفاده شده است، اغلب با پونکسیون مغز استخوان که روشی تهاجمی و پرهزینه است و دارای حساسیت حدود ۶۹٪ می باشد، انجام می گیرد (Soleimanzadeh, 1993).

مطالعات مختلف نشان داده اند که آزمایش

آگلوتیناسیون مستقیم Direct Agglutination

Test(DAT) روش سرولوژی ساده ای است که از حساسیت و ویژگی مطلوب برخوردار می باشد. می توان با این روش موارد عفونت لیشمانیوز احشایی در انسان و مخازن حیوانی (سگ و سگسانان) را تشخیص داده، اقدامات لازم جهت درمان و یا مراقبت و کنترل ایمن بیماری انجام داد (Harith et al. 1989, Harith et al. 1989). اولین مرتبه آنتی ژن آگلوتیناسیون مستقیم توسط دکتر هاریت جهت تشخیص آزمایشگاهی کالاآزار تهیه شد و مورد استفاده قرار گرفت. از سال ۱۳۷۲ واحد تک یاخته شناسی گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی تهران، با استفاده از روش دکتر هاریت (Harith et al., 1986) و راهنمایی ایشان به شکل فعال، موفق به تهیه آنتی ژن DA با کیفیت مطلوب گردید. نمونه هایی از آنتی ژن تهیه شده فوق از طریق سازمان بهداشت جهانی به آزمایشگاه های مورد اعتماد آن سازمان، جهت ارزشیابی ارسال شد و مورد تأیید قرار گرفت. هدف از این مطالعه بیماریابی و درمان موارد کالاآزار و تعیین میزان شیوع آن در استانهای اردبیل، آذربایجان شرقی و بوشهر با استفاده از امکانات شبکه های بهداشت، درمان و مراقبتهای بهداشتی

اولیه بوده است و برای رسیدن به این هدف طرحی مشترک تحت عنوان «تهیه آنتی ژن آگلوتیناسیون مستقیم (DAT) و بررسی سرولوژی لیشمانیوز احشایی» به منظور برقراری سیستم مراقبت، بیماریابی و درمان موارد، در دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، تهیه و پس از تصویب در دانشگاه علوم پزشکی تهران و اداره کل مبارزه با بیماریها از اول سال ۱۳۷۵ به مرحله اجرا گذاشته شد.

## روش کار :

پس از هماهنگیهای لازم و تشکیل جلسات مشورتی با معاونان محترم بهداشتی و مسوولان مبارزه با بیماریهای استانهای اردبیل، آذربایجان شرقی و بوشهر، تعدادی از کارشناسان و کاردانهای علوم آزمایشگاهی استانهای مذکور هر کدام در یک دوره آموزشی به مدت ده روز در واحد تک یاخته شناسی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، روشهای عملی لازم در زمینه تشخیص آزمایشگاهی لیشمانیوز احشایی، خصوصاً انجام آزمایش آگلوتیناسیون مستقیم را فرا گرفتند. بتدریج پس از تأسیس آزمایشگاه های لیشمانیوز در شهرستانهای مشکین شهر، گرمی و اردبیل از استان اردبیل، تبریز، اهر و کلیبر از استان آذربایجان شرقی، برازجان و خورموج از استان بوشهر به تشخیص کالاآزار به روش آگلوتیناسیون مستقیم مشغول شدند. همچنین دوره های بازآموزی در زمینه لیشمانیوز احشایی برای پزشکان، مسوولان مبارزه با بیماریها و مربیان بهورزی مناطق تحت بررسی برگزار گردید و به بهورزان شهرستانهای مذکور آموزش لازم داده شد تا نمونه های افراد مشکوک به کالاآزار را تهیه نمایند و پس از ثبت مشخصات به آزمایشگاه های لیشمانیوز نزدیکترین شهرستان ارسال کنند. پس از آزمایش آگلوتیناسیون مستقیم، افراد مشکوک به کالاآزار جهت معاینه بالینی به پزشکان مجرب و یا متخصصان کودکان در مراکز درمانی معرفی شوند تا در صورت تأیید بیماری و وجود علائم بالینی کالاآزار در افرادی که از نظر سرولوژی DAT با عیار ۱:۳۲۰۰ و بیشتر مثبت هستند، برای درمان آنها اقدام شود. در این بررسی، بیماریابی به شکل فعال توسط بهورزان خانه های بهداشت و یا

## نتایج:

در این مطالعه ۷۳ سری (Batches) آنتی ژن لیشمانیا جهت تست آگلوتیناسیون مستقیم در آزمایشگاه لیشمانیوز واحد تک یاخته شناسی گروه انگل شناسی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی تهیه شد و پس از انجام کنترل کیفی به مقدار لازم در اختیار آزمایشگاه های لیشمانیوز شهرستانهای یاد شده قرار گرفت. در مجموع ۱۹۶۹۳ نمونه سرم یا پلاسما خون که در بیماریابی به طور فعال یا غیرفعال توسط بهورزان خانه های بهداشت و یا پزشکان از افراد مشکوک به کالآزار تهیه شده بود، به روش آگلوتیناسیون مستقیم مورد آزمایش قرار گرفت که ۱۲۷۴ نمونه (۶/۴۷٪) از نظر سرولوژی مثبت و دارای پادتن اختصاصی علیه لیشمانیا با عیارهای ۳۲۰۰: ۱ و بیشتر بود. از موارد مثبت سرولوژی تعداد ۶۹۰ نفر که در معاینه پزشکی دارای علائم اختصاصی کالآزار بودند با هماهنگی های شبکه های بهداشتی - درمانی شهرستانهای مربوطه تحت درمان قرار گرفتند. تعداد افراد مورد مطالعه و نتایج آزمون آگلوتیناسیون و معاینه بالینی در مناطق تحت بررسی در جدول شماره ۱، و گروه سنی افراد مبتلا به کالآزار (آزمایش مثبت DAT با علائم بالینی اختصاصی بیماری) در جدول شماره ۲ خلاصه شده است. از نظر جنس ۵۵/۸٪ از بیماران کالآزار مذکر و ۴۴/۲٪ مونث بودند. معمولاً موارد کالآزار در اواخر زمستان و اوایل بهار در مناطق اندمیک بیشتر دیده می شود.

## بحث و نتیجه گیری:

از زمانی که موارد اولیه کالآزار در ایران توسط دکتر یحیی پویا در سال ۱۳۲۸ از استان مازندران در سه بیمار اعلام شد، تا سال ۱۳۷۶ بیش از ۵۰۰۰ مورد کالآزار از مناطق مختلف ایران گزارش گردیده است (Edrissian 1996). افزایش سریع موارد کالآزار طی سالهای اخیر، لزوم مطالعه ای جامع پیرامون جنبه های مختلف اپیدمیولوژیک این بیماری و بیماریابی را ایجاب می نمود و لذا بررسی حاضر از سال ۱۳۷۵ تا سال ۱۳۸۰ در بعضی مناطق ایران که مطالعات انجام گرفته نشان می داد بیماری به شکل اندمیک وجود دارد، آغاز گردید. روش آگلوتیناسیون

به صورت غیرفعال، در میان بیمارانی که خود به مراکز درمانی و یا پزشکان مراجعه می کردند، انجام شد. بهورزان از تمامی افراد خصوصاً بچه های زیر ۱۲ سال که دارای تب طولانی بیش از دو هفته، کم خونی و بزرگی شکم بودند، نمونه خون بر روی کاغذهای صافی مخصوص (واتمن شماره ۳) و یا لوله های میکروهماتوکریت هپارینه تهیه می نمودند که پس از انجام آزمایش آگلوتیناسیون در آزمایشگاه های لیشمانیوز، نتایج حاصله به شبکه بهداشت و درمان شهرستانهای یاد شده فرستاده می شد. در این مطالعه از لیشمانیا اینفانتوم (*Leishmania infantum Lon 40*) که از یک قلاذه سگ مبتلا به لیشمانیوز احشایی در شهر کرد جدا شده بود، جهت تهیه آنتی ژن استفاده شد. آنتی ژن آگلوتیناسیون مستقیم در آزمایشگاه لیشمانیوز دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی تهیه شد (Harith et al. 1986, Edrissian 1996). در این روش پس از کشت انگل لیشمانیا و تکثیر در محیط RPMI ۱۶۴۰ و جمع آوری آنها، پروماستیگوت ها با بافر PBS شستشو و سپس ترپسینه شدند. آنگاه با فرمالین ۲٪ ثابت شده، با رنگ کوماسی بریلیانانت بلو (Commassie brilliant blue) ۰/۴٪ رنگ آمیزی گردیدند.

پس از تنظیم غلظت پروماستیگوت ها به میزان ۵۰ میلیون انگل در هر میلی لیتر، آنتی ژن مذکور مورد استفاده قرار می گرفت. تست DAT با استفاده از رتھای مختلف سرم و یا پلاسما افراد مشکوک و آنتی ژن آگلوتیناسیون مستقیم در داخل چاهکهای پلیت V شکل انجام می گرفت. نتایج آزمایش پس از ۱۸ - ۱۲ ساعت قراردادن در دمای آزمایشگاه قرائت می شد. در این بررسی تیتراهای ۳۲۰۰: ۱ و بیشتر، مثبت و ۱۶۰۰: ۱ مشکوک تلقی می گردیدند. از افرادی که نتیجه سرولوژی آنها مشکوک بود، معمولاً پس از چند هفته مجدداً نمونه تهیه می شد و مورد آزمایش قرار می گرفت تا بدین وسیله تغییرات عیار آنتی بادی مشخص شود.

حدود ۴۵٪ از موارد مثبت سرولوژی، علایم بالینی اختصاصی کالآزار نداشته اند. احتمالاً تعدادی از این افراد سابقه قبلی کالآزار داشته اند و درمان شده اند. در تست DA پادتن ممکن است، سالها بعد از درمان با عیار بالا مثبت باقی بماند (Edrissian et al. 1996). عده ای هم ممکن است در معرض آلودگی قرار گرفته، ولی بیمار نشده باشند و یا علایم بیماری هنوز در آنان ظاهر نشده باشد؛ لذا در صورت امکان بهتر است بر روی بچه هایی که ساکن مناطق اندمیک هستند و آزمایش سرولوژی آنان مثبت است ولی علایم بالینی ندارند، و همچنین بر روی بچه هایی که علایم بالینی دارند ولی تست سرولوژی اختصاصی منفی است، پونکسیون مغز استخوان و آزمایش پارازیتولوژی انجام گیرد.

مطالعه فوق علاوه بر دستاوردهای تولیدی و تشخیصی، دارای جنبه های آموزشی قابل توجهی بوده است، به طوری که ۲۱ دوره بازآموزی برای پزشکان، مسولان، مبارزه با بیماریها و مربیان بهورزی مناطق تحت بررسی برگزار شد و تعداد ۱۵ نفر از کارشناسان و کاردانهای علوم آزمایشگاهی معرفی شده از مناطق تحت بررسی، طی ۷ دوره ۱۰ روزه آموزشهای لازم را جهت تشخیص آزمایشگاهی لیشمانیوز احشایی دیده اند. باتوجه به اقدامات فوق، نظر مسولان بهداشتی - درمانی کشور خصوصاً در مناطق بررسی شده به مسأله کالآزار جلب شده و با بیماریابی بموقع، از مرگ و میر مبتلایان خصوصاً بچه ها جلوگیری به عمل آمده است. با اجرای این طرح میزان مرگ و میر ناشی از کالآزار (که معمولاً توام با علایم بالینی و مرگ و میر بالا بوده است) در مناطق تحت بررسی کاهش قابل ملاحظه ای داشته است. مرگ در موارد نادری که معمولاً بیمار دیر مراجعه کرده و یا تشخیص قطعی با تأخیر انجام گرفته بود مشاهده شد. کالآزار در ایران در گذشته نه چندان دور به صورت اسپورادیک گزارش می شد (Nadim et al. 1978)، ولی مطالعات اخیر در مناطقی از استانهای اردبیل، آذربایجان شرقی و بوشهر و همچنین استان فارس (Edrissian et al. 1993) نشان می دهد این بیماری به صورت اندمیک در بچه ها شیوع دارد. گزارش موارد نسبتاً زیاد بیماری در بعضی دیگر از مناطق ایران، احتمال وجود کانونهای اندمیک دیگری را مطرح می

مستقیم، روش سرولوژی ساده ای است که نیاز به دستگاه های گرانقیمت و پیچیده ندارد و در صورت در دسترس بودن آنتی ژن مطلوب، انجام آن در مناطق دورافتاده که دارای حداقل امکانات آزمایشگاهی باشند، توسط یک نفر تکنسین آموزش دیده امکان پذیر است. حساسیت این روش در مناطق اندمیک ۱۰۰-۹۲٪ برآورد شده است (Andrade 1987, Meredith 1995, Abdel-Hameed 1989, Sinha et al. 1994). در بیمارانی که از نظر علایم بالینی مشکوک به کالآزار هستند، در صورت مثبت شدن این آزمایش، بدون انجام پونکسیون طحال و یا مغز استخوان می توان آنها را تحت درمان اختصاصی لیشمانیوز احشایی قرار داد (Boelaet et al. 1999). همچنین می توان با استفاده از روشهای سرولوژی اختصاصی، درصد افراد سرولوژی مثبت را در ساکنان یک منطقه تعیین، و میزان شیوع بیماری را در آن مناطق مشخص نمود و موارد عفونتهای بدون علایم بالینی کالآزار را شناسایی کرد (Edrissian et al 1988, Edrissian et al. 1999).

براساس این اطلاعات از شروع این مطالعه تاکنون ۷۳ سری آنتی ژن آگلوتیناسیون مستقیم تهیه شده و پس از کنترل کیفی در اختیار آزمایشگاه های لیشمانیوز احشایی اردبیل، آذربایجان شرقی و بوشهر قرار گرفته است. در مدت اجرای این طرح جمعاً ۱۹۶۹۳ نمونه سرم یا پلاسما خون افراد مشکوک به کالآزار به روش آگلوتیناسیون مستقیم، مورد آزمایش قرار گرفت که ۱۲۷۴ نمونه (۶/۴۷٪) از نظر سرولوژی مثبت و دارای آنتی بادی اختصاصی با عیارهای ۱:۳۲۰۰ و بیشتر بود. از این تعداد سرولوژی مثبت ۶۹۰ نفر (۵۴/۱۶٪) دارای علایم بالینی اختصاصی کالآزار بودند (۳/۵٪ کل نمونه های آزمایش شده) که پس از معاینات بالینی تحت درمان قرار گرفتند. بیشترین موارد مثبت سرولوژی مربوط به گروه های سنی ۱ تا ۴ سال بود که باتوجه به مدیترانه ای بودن کالآزار در ایران، با نتایج مطالعات قبلی نیز همخوانی دارد (Mohebbali et al. in press, Edrissian et al. 1996).

مرکز بهداشت استان آذربایجان شرقی در سالهای ۷۱-۱۳۷۰ انجام گرفت، تاحد زیادی در کنترل بیماری مؤثر بود (Nadim et al. 1993).

### تشکر و قدردانی:

این بررسی (شماره ط - ۳/۷۴/۲۴۱) با پشتیبانی مالی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران و اداره کل مبارزه با بیماریها و همکاری مؤثر معاونتهای بهداشتی استانهای اردبیل، آذربایجان شرقی و بوشهر و مرکز آموزش و تحقیقات بهداشتی مشکین شهر انجام گرفته است. بدین وسیله از حمایت بیدریغ این مؤسسات قدردانی می شود. همچنین از کلیه پزشکان، مسوولان مبارزه با بیماریها، کاردانشان و کارشناسان آزمایشگاه های لیشمانیوز، مربیان بهورزی و بهورزان و سایر افرادی که در اجرای این برنامه همکاری داشته اند، صمیمانه تشکر می گردد.

کند. با این ترتیب لازم است کالآزار مورد توجه بیشتر مسوولان بهداشتی کشور قرار گیرد، امکانات لازم برای تولید آنتی ژن آگلوتیناسیون مستقیم جهت انجام تست DA در سطح انبوه و با سایر تستهای سرولوژی اختصاصی مانند ایمونوفلورسانس غیرمستقیم (IFAT)، الیزا (ELISA) و استفاده از کیت Dipstick rk39 برای تشخیص سریع بیماری فراهم شود، همچنین با برگزاری دوره های بازآموزی و کارگاه های آموزشی، زمینه تشخیص لیشمانیوز احشایی و گزارش اجباری موارد بیماری بویژه در مناطقی که احتمال شیوع بیماری وجود دارد نیز آماده شود.

در مناطق اندمیک تا آنجا که مقدور است با آموزش بهداشت، رعایت بهداشت محیط، از بین بردن سگهای ولگرد و آلوده و در موارد لزوم مبارزه با پشه خاکیهای ناقل، کنترل بیماری انجام گیرد. در طرح تجربی کنترل کالآزار، روشهای فوق الذکر که در کانون کالآزار مشکین شهر، استان اردبیل با حمایت WHO/TDR (طرح شماره ۹۱۰۱۹۱) به وسیله دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی با همکاری

جدول شماره ۱ - تعداد افراد مورد مطالعه و نتایج آزمایش آگلوتیناسیون مستقیم و معاینه بالینی در مناطق تحت بررسی طی سالهای ۸۰ - ۱۳۷۵

نام استان	تعداد نمونه آزمایش شده	تعداد موارد مثبت سرولوژی (۳۲۰۰ و بیشتر)	درصد مثبت سرولوژی	تعداد افراد دارای علائم بالینی	درصد افراد دارای علائم بالینی
اردبیل	۱۱۴۱۲	۷۲۷	۶/۴	۴۱۸	۳/۶۶
آذربایجان شرقی	۶۶۷۰	۴۷۶	۷/۱	۲۰۲	۳/۰۲
بوشهر	۱۶۱۱	۷۱	۴/۴	۷۰	۴/۳۴
جمع	۱۹۶۹۳	۱۲۷۴	۶/۴۷	۶۹۰	۳/۵

جدول شماره ۲ - موارد کالآزار تایید شده (آزمایش مثبت آگلوتیناسیون مستقیم + علایم بالینی) گروه‌های سنی در مناطق تحت بررسی طی سالهای ۸۰ - ۱۳۷۵ بر حسب

جمع		گروه های سنی								نام استان
		بالاتر از ۱۲ سال		۵ - ۱۲ سال		۱ - ۴ سال		زیریک سال		
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۶۰/۵۴	۳۶۵	۰/۸۲	۳	۱۸/۳۵	۶۷	۶۰	۲۱۹	۲۰/۸۲	۷۶	اردبیل
۲۸/۶۸	۱۷۳	۱/۷۳	۳	۱۱/۵۶	۲۰	۶۹/۳۶	۱۲۰	۱۷/۳۴	۳۰	آذربایجان شرقی
۱۰/۷۸	۶۵	۰	۰	۱۰/۷۶	۷	۶۱/۵۳	۴۰	۲۷/۷۰	۱۸	بوشهر
۱۰۰	۶۰۳	۰/۹۹	۶	۱۵/۵۸	۹۴	۶۲/۸۵	۳۷۹	۲۰/۵۶	۱۲۴	جمع

agglutination test in sero-diagnosis of visceral leishmaniasis in man and canine reservoirs in Iran. *Iranian Journal of Medical Sciences*. **21**: 119-124.

Edrissian Gh.H., Nadim A. and Ardehali A. (1999) Visceral leishmaniasis; the Iranian experience. *Archives of Iranian Medicine*. **1**: 22-26.

Gilles H.M. (1999) Protozoan diseases. Georgina Bentliff publisher.

Harith A.E., Kalle A.H.J., Kager A., et al (1986) A simple and economical direct agglutination test for sero-diagnosis and sero-epidemiological studies of visceral leishmaniasis. *Transaction of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **80**: 583-7.

Harith A.E., Stappendel R.J., Reiter I., et al. (1989) Application of direct agglutination test for detection of specific anti-leishmania antibodies in the canine reservoir. *Journal of Clinical Microbiology*. **10**: 2252-6.

Meredith S.E., Kroon N.C., Sondorp E., et al. (1995) Leish-kit, a stable direct agglutination test based on freeze-dried antigen for serodiagnosis of visceral leishmaniasis. *Journal of Clinical Microbiology*. **33**: 1742-5.

Mohebbi M., Hamzavi Y., Edrissian Gh., et al. (In press) Sero-epidemiological studies of visceral leishmaniasis in Bushehr Province, South of I.R.Iran. *Eastern Mediterranean Health Journal*.

Nadim A., Edrissian Gh.H., Movahed - Danesh A.M., et al (1993) Pilot project for the control of Kala-Azar in the focus of Meshkin Shahr, north-west Iran, final report.

## منابع :

Abdel-Hameed A.A., Harith A.E. and Abdel-Rahim I.M. (1989) Potential of a direct agglutination test (DAT) for detection of visceral leishmaniasis in a known endemic area in Sudan. *Tropical Medicine in parasitology*. **4**:470-1.

Andrade C.R., Silva O.A., Andrade P.P., et al. (1987) A direct agglutination test discriminative toward Chagas disease for the diagnosis of visceral leishmaniasis in Brazil: preliminary results. *Annal Institute Pasteur Immunology*. **138**: 457-479.

Boelaert M., Lynen L., Desjeux P., et al. (1999). Cost-effectiveness of competing diagnostic - therapeutic strategies for visceral leishmaniasis. *Bulletin of the World Health Organization*. **8**: 667 - 674.

Edrissian Gh.H., Hafizi A., Afshar A., et al. (1988). An endemic focus of visceral leishmaniasis in Meshkin-Shahr, East Azerbaijan, north -west part of Iran. *Bulletin de la Societe de Pathologic Exotique*. **2**: 238-48.

Edrissian Gh.H., Ahanchin A.R., Gharachahi A.M., et al. (1993) Seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis and search for animal reservoirs in Fars province Southern Iran. *Iranian Journal of Medical Sciences*. **18**: 99-105.

Edrissian Gh.H. (1996) Visceral leishmaniasis in Iran and the role of serological tests in diagnosis and epidemiological studies. In: Ozcel MA, Alkan MZ, (eds). *Parasitology for the 21<sup>st</sup> century CAB International*.

Edrissian Gh.H., Hajjaran H., Mohebbi M., et al. (1996) Application and evaluation of direct

- Sinha R. and Sehgal S. (1994) Comparative evaluation of serological tests in Indian kala-azar. *Jouranl of Tropical Medicine and Hygiene*. 97:333-40.
- Soleymanzadeh G., Edrissian G.h., Movahed-Danesh A.M., et al. (1993) Epidemiological aspects of kala-azar in Meshkin-Shahr, Iran: *Human Infection. Bulletin of the World Health Organization*. 6: 759-762.
- World Health Organization (1990) Control of the Leishmaniasis. *Technical Report Series*. 793: 10-12.

## KALA-AZAR CASE FINDING USING DIRECT AGGLUTINATION TEST

Edrissian Gh.H.<sup>1</sup>; Mohebbali M.<sup>1</sup>; Hajjarian H.<sup>1</sup>; Arshi S.H.<sup>2</sup>; Atari M.R.<sup>3</sup>; Frouzani A.R.<sup>4</sup>; Hooshmand B.<sup>5</sup>; Akhoundi B.<sup>1</sup> and Nadim A.<sup>1</sup>

Visceral leishmaniasis (VL) has been found as an endemic disease in some areas in northwest and south parts of Iran during recent two decades. The species of the *Leishmania* has been characterized as *L. infantum* and the main sources of human infection in the endemic areas is dog. The majority of kala-azar cases are found among children in the age group of 1-4 years. As the delay in diagnosis and treatment of kala-azar cause high mortality in the patients, serological surveillance, using direct agglutination test (DAT), and treatment of seropositive cases who have clinical symptoms are carrying out with cooperation of Provincial Health Services in the endemic foci of Ardebil and East Azerbaijan Provinces in the northwest and Bushehr in the south parts of Iran since 1997.

DAT *Leishmania* antigen is made in the Protozoology Unit of the School of Public Health with the strain of *L. infantum* isolated from an infected dog in Iran. The finger prick blood samples are collected by trained Health Workers (Behwarz) from suspected kala-azar patients in the Rural Health Houses. The collected samples are transferred to the near district kala-azar laboratory and tested (using DAT) by the trained technicians. The sero-positive patients are referred to pediatricians or trained general physicians in district hospital or health center for clinical examination and treatment of the seropositive cases (DAT titers of 1:3200 or higher) with kala-azar clinical symptoms. For the treatment, usually, meglumine antimonate (Glucantime) is used via intra-muscular in doses of 20mg/kg/day for 20 days.

In kala-azar case finding in the serological surveyed areas of Ardebil, East-Azerbaijan and Bushehr provinces during 1997-2001, altogether, 19693 blood samples were collected from suspected kala-azar patients and tested by DAT. Totally, 1274 cases (6.74%) were seropositive in titers of 1:3200 or higher. In the clinical examination of seropositive cases 690 patients (54.16% of sero-positive cases and 3.50% of the total samples) had kala-azar clinical symptoms and therefore they were treated.

This serological surveillance of kala-azar in the endemic area as have detected high number of kala-azar patients among children up to 12 years old, who were subsequently treated on time. This project has prevented the mortality of the disease in the studied areas.

**Key words:** Casefinding, Kala-azar, Direct Agglutination Test, Iran

<sup>1</sup>School of Public Health and Institute of Public Health Research, Tehran University of Medical Sciences. P.O.Box. 14155 - 6446, Tehran, Iran.

<sup>2</sup>Director of Public Health, Ardebil University of Medical Sciences and Health Services.

<sup>3</sup>Diseases Control Office, East Azerbaijan University of Medical Sciences and Health Services.

<sup>4</sup>Diseases Control Office, Bushehr University of Medical Sciences and Health Services.

<sup>5</sup>Diseases Management Office, Ministry of Health and Medical Education.