

Molecular Study of Cutaneous Leishmaniasis Species among Soldiers with Dermal Ulcers in Zahedan, Iran

Sekandarpour. S¹

*Shaddel. M²

Asadi. Z S³

1- MSc in Parasitology,
Parasitology and Mycology
Department, Faculty of
Medicine, Aja University of
Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- (*Corresponding Author)
Parasitology and Mycology
Department, Faculty of
Medicine, Aja University of
Medical Sciences, Tehran, Iran.
Email: min_shad@yahoo.com

3- Community Medicine and
Military Epidemiology Research
Centre Department, Faculty
of Medicine, Aja University of
Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

Introduction: Cutaneous leishmaniasis (CL) is one of the most important parasitic diseases in the world and Iran. This disease is important in military force and its prevention during peacetime and prediction during wartime is required.

Objective: The present study was designed to investigate the prevalence of CL in soldiers with suspected skin lesions via parasitic and molecular techniques in the garrison of Sistan- Balouchistan Province, Southeast of Iran.

Material and Methods: In this descriptive study, 145 soldiers with suspected skin lesions were examined. After obtaining the consent and filling the personal information form, samples were collected, then examined by microscopy and molecular techniques.

Results: Totally, 91% of the lesions were positive for CL and the sensitivity of molecular technologies in the detection of leishmania is more than that of parasitic technique. The prevalence of *Leishmania Tropica* is 57%.

Discussion and Conclusion: The prevalence of CL was high. The population of this study consisted of wounded soldiers with specific features. Furthermore, climate conditions of regions have changed recently. Thus, such unusual variables are indirect contributing factors of changes in the dispersion of contagious diseases like CL. The molecular technique had superiority in the detection of leishmania. Predominant species were *Leishmania Tropica* in this area.

Keywords: Cutaneous, Leishmaniasis, Veterans, Zahedan.

بررسی مولکولار گونه‌های لیشمانیازیس جلدی بین سربازان با زخم‌های پوستی در پادگان شهر زاهدان، ایران

سینا سکندرپور^۱، مینو شاددل^۲، زهرا سادات اسدی^۳

چکیده

مقدمه: لیشمانیازیس جلدی یکی از بیماری‌های مهم انگلی مشترک بین انسان و حیوان در جهان و کشور ایران است. این بیماری در یگان‌های نظامی دارای اهمیت است و پیشگیری از آن در زمان صلح و پیش بینی آن در زمان جنگ ضرورت دارد. **هدف:** پژوهش حاضر جهت بررسی مولکولار لیشمانیازیس جلدی در سربازان دارای ضایعات مشکوک پوستی به روش پارازیتولوژی و مولکولی و تعیین حساسیت و ویژگی در پادگان شهر زاهدان در سال ۱۳۹۸، طراحی و اجرا شد. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه‌ی توصیفی، ۱۴۵ نفر از سربازانی که دارای زخم پوستی مشکوک بودند، از نظر وجود عامل لیشمانیا مورد بررسی قرار گرفتند. از هر کدام از زخم‌ها، نمونه تهیه شد و مورد بررسی میکروسکوپی و مولکولی قرار گرفت. از آمار توصیفی و تحلیلی و نرم‌افزار SPSS جهت تحلیل بهره گرفته شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۵ معنی‌دار تلقی گردید. **یافته‌ها:** در این بررسی، ۹۱ درصد ضایعات از نظر لیشمانیازیس جلدی مثبت بودند. حساسیت روش مولکولی و پارازیتولوژی به ترتیب ۹۰ و ۵۱ درصد، ارزش اخباری منفی روش مولکولی و پارازیتولوژی به ترتیب ۵۰ و ۱۷ درصد و کارایی روش مولکولی و پارازیتولوژی به ترتیب ۹۱ و ۵۵ درصد بود و فراوانی گونه لیشمانیا تروپیکا ۵۷ درصد بود. **بحث و نتیجه‌گیری:** درصد فراوانی لیشمانیازیس جلدی در بین سربازان پادگان شهر زاهدان با زخم پوستی، بالا است. روش مولکولی در تشخیص انگل لیشمانیا دارای برتری نسبی و عملکرد احتمالی بیشتر بود و گونه‌ی غالب در منطقه‌ی مورد مطالعه لیشمانیا تروپیکا بود.

کلمات کلیدی: جلدی، زاهدان، سربازان، لیشمانیازیس.

مجله علوم مراقبتی نظامی ■ سال هفتم ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۹ ■ شماره مسلسل ۲۶ ■ صفحات ۳۱۰-۳۱۸
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۵/۲۶
تاریخ انتشار: ۱۳۹۹/۱۲/۲۵

مقدمه

(ماده) از جنس فلبوتوموس در جهان کهن و لوتزومیا در جهان نوین است و به سه شکل جلدی (سالک)، احشایی (کالازار) و جلدی- مخاطی بروز می‌کند (۵). بر اساس آمارهای موجود، ۳۵۰ میلیون نفر در ۸۸ کشور جهان در معرض ابتلا به این بیماری قرار دارند و حدود ۱۲ میلیون نفر به یکی از اشکال آن مبتلا هستند (۶). بالغ بر ۲۰۰۰۰ مورد مرگ و میر ناشی از لیشمانیازیس در جهان گزارش شده است (۷) و بروز سالیانه موارد جدید بیماری در جهان در حدود ۲ میلیون نفر است

لیشمانیازیس جلدی از بیماری‌های مهم انگلی و مشترک بین انسان و حیوان است و در زمره بیماری‌های انگلی خونی و نسجی نوپدید و فرصت طلب مانند توکسوپلازما گوندی و غیره قرار دارد (۱، ۲). این بیماری توسط تک یاخته‌ای از گروه تاژکداران ایجاد می‌شود. انگل در بدن میزبان مهره‌دار به شکل آماستیگوت و در بدن میزبان بدون مهره (پشه خاکی) به شکل پروماستیگوت مشاهده می‌شود (۳، ۴). ناقل بیماری گونه‌های مختلف پشه خاکی

۱- کارشناس ارشد انگل شناسی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران.

۲- دکترای انگل شناسی پزشکی، استاد، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران (*نویسنده مسئول).
آدرس الکترونیک: min_shad@yahoo.com

۳- دکترای طب سلامت، استادیار، گروه بهداشت و سلامت، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران.

حجم نمونه مطالعه مشابه (۱۰)، ۱۴۵ نفر به روش تمام شماری در بازه زمانی یک ساله از سال ۱۳۹۷ تا سال ۱۳۹۸ وارد مطالعه شدند. سربازان دارای زخم پوستی مشکوک واجد شرایط، جهت ورود به مطالعه بودند.

روش‌های انجام آزمایش به شرح زیر می‌باشد:

روش میکروسکوپی

مقداری از بافت همراه با سروزیته از محل ضایعه (سروصورت، دست، پا و سایر قسمت‌ها) توسط واکس استیل برداشته شد و بر روی لام، گسترش تهیه گردید. نمونه‌های فیکس شده با متانول، با رنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شدند و از نظر وجود جسم لیشتن مورد مشاهده میکروسکوپی قرار گرفتند (شکل ۱).

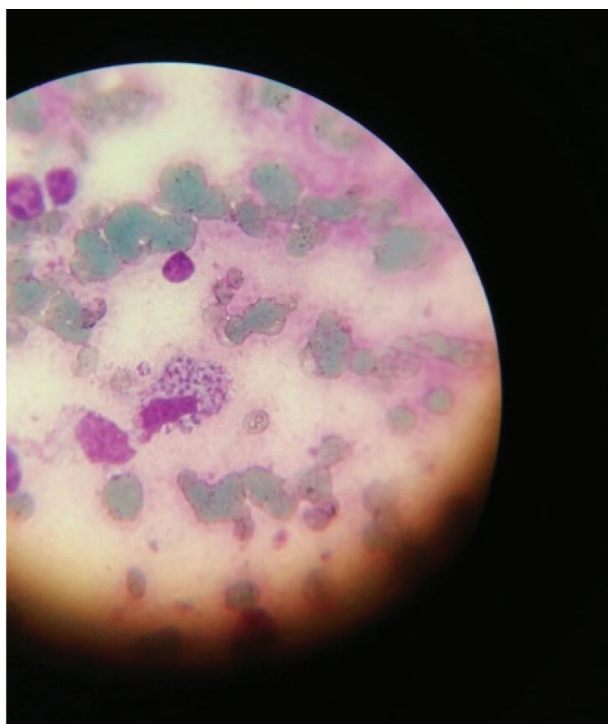
روش مولکولی

روش استخراج DNA از روی لام

استخراج DNA با استفاده از کیت DynaBio Blood/Tissue DNA Extractoin Mini Kit شرکت تکاپوزیست انجام گرفت.

روش انجام Nested PCR برای ژن‌های مورد مطالعه

در این مطالعه جهت واکنش ۱-PCR از یک جفت پرایمر



شکل ۱- نمونه‌ی مثبت حاصل از آزمایش پارازیتولوژی در سربازان دارای ضایعات مشکوک پوستی

که تنها ۱/۵ میلیون نفر آن‌ها به نوع لیشتمانیازیس جلدی مبتلا هستند (۶). این بیماری در مناطق مختلف دنیا از جمله کشورهای آفریقایی، امریکا، برزیل، پرو، هندوستان، نواحی شرقی و جنوب مدیترانه و خاورمیانه مانند عربستان سعودی، سوریه، افغانستان و ایران شیوع دارد. ۹۰ درصد موارد جدید سالیانه لیشتمانیازیس جلدی از کشورهای مذکور و از جمله ایران گزارش شده است (۸-۱۰). این بیماری از اولویت‌های بهداشتی ایران است و به صورت بومی در ایران وجود دارد، به طوری که طبق گزارش‌ها، ۱۸ استان از ۳۳ استان ایران درگیر این بیماری بوده که عامل آن را، دو گونه‌ی لیشتمانیا ماژور و لیشتمانیا تروپیکا اشاره کرده‌اند (۷، ۹). عامل لیشتمانیازیس جلدی در استان‌های اصفهان، خوزستان و خراسان، لیشتمانیا ماژور در شهرهای کرمان، مشهد، شیراز و بم لیشتمانیا تروپیکا گزارش شده است (۷، ۹، ۱۱).

در سال‌های اخیر، تغییرات محیطی ناشی از جنگ، آب و هوا و همچنین بحران‌ها و بلایای طبیعی چهره اپیدمیولوژیکی بیماری را تغییر داده و باعث افزایش بروز بیماری در مناطق غیراندیمیک شده است (۱۲) و در حال گسترش به سایر مناطق و مرزهای کشور نیز می‌باشد (۹). قابل اشاره است که در حال حاضر لیشتمانیازیس جلدی به عنوان یک مشکل اساسی در کشورهای جنگ‌زده‌ی همسایه از جمله عراق و افغانستان است و گزارش‌هایی مبنی بر وجود این بیماری در بین سربازان آمریکایی مستقر در این مناطق و همچنین در مرز ایران و عراق وجود دارد (۱۳). در طی جنگ تحمیلی، لیشتمانیازیس جلدی به عنوان یک معضل بهداشتی مهم در مناطق جنگی به ویژه در جنوب غرب کشور به حساب می‌آمد (۱۱). آلودگی در نواحی جنوب شرق کشور و در شهرهای مرزی نظیر چاه بهار، ایرانشهر و زاهدان وجود دارد (۱۲، ۱۴، ۱۵).

با توجه به موارد مذکور و در عین حال انجام مطالعات اندک روی سربازان مبتلا به لیشتمانیازیس جلدی، این مطالعه با هدف بررسی مولکولار لیشتمانیازیس جلدی در سربازان دارای ضایعات مشکوک پوستی به روش پارازیتولوژی و مولکولی و تعیین حساسیت و ویژگی در پادگان شهر زاهدان در سال ۱۳۹۸، طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع توصیفی-مقطعی است که در آن بر اساس

۱۰۰ bp جهت اندازه‌گیری باندهای تشکیل شده استفاده گردید. گاهی برای مشاهده قطعات کمتر از ۱۰۰ bp نیاز بود که از مارکر ۵۰ bp استفاده شد (۲) (جدول ۱).

با تأثیر آنزیم BsuRI (HaeIII) بر ژن ITS-rDNA لیثمانیا ماژور، قطعه‌ای با اندازه‌ای در حدود ۲۳۰ bp به وجود می‌آید و در مورد لیثمانیا تروپیکا نیز، قطعه‌ای با اندازه‌ای در حدود ۱۳۰ bp به وجود می‌آید و با تأثیر آنزیم SspI بر ژن سیتو کروم b لیثمانیا ماژور، ۲ قطعه با اندازه‌های ۴۰۰ bp و ۴۸۰ bp به وجود می‌آید و در مورد لیثمانیا تروپیکا، ۳ قطعه با اندازه‌های ۱۳۰ bp، ۲۱۵ bp و ۵۳۵ bp به وجود می‌آید. جهت گزارش نتایج، از جدول فراوانی و درصد و میانگین و انحراف معیار استفاده شد. داده‌ها به صورت جداول فراوانی ترسیم شدند و برای بررسی داده‌ها از آزمون کای دو استفاده شد. برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ استفاده شد. احتمال خطای کمتر از ۰/۰۵ برای سطح معناداری ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد.

این مطالعه مصوب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی آجا با کد IR.AJAUMS.REC.۱۳۹۸.۱۷۴ می‌باشد و با کسب رضایت آگاهانه از سربازان صورت گرفت. عدم همکاری احتمالی آنان

الیگونوکلئوتیدی به نام پرایمر IR۱ (Forward Primer) و پرایمر IR۲ (Reverse Primer) استفاده گردید (۱۱، ۱۶) و در ۲-PCR از پرایمر ITS۱ (Forward Primer) و پرایمر ITS۲ (Reverse Primer) استفاده شد (۱۱، ۱۶) جهت الکتروفورز نمونه‌های ژن ITS-rDNA از ژل ۲ درصد و برای ژن سیتوکروم b از ژل ۱/۵ درصد استفاده گردید. پس از الکتروفورز باند اولیه محصول PCR با اندازه حدود ۴۸۰ bp برای ژن ITS-rDNA و ۸۸۰ bp برای ژن سیتوکروم b مشاهده می‌شود (جدول ۱). ژل آگارز ۱/۵ درصد برای ژن ITS-rDNA و ژل آگارز ۳ درصد برای ژن سیتوکروم b، آماده شد.

روش-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

Polymerase Chain Reaction) RFLP-PCR

(چند شکلی ژنتیکی قطعه توسط آنزیم‌های محدودگر -

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز)

در این تحقیق از آنزیم‌های BsuRI (HaeIII) و SspI که ژن‌های ITS-rDNA و سیتوکروم b انگل لیثمانیا را به ترتیب در نواحی GG↓CC و AAT↓ATT شناسایی کرده و می‌شکنند، استفاده شد (۱۲، ۱۶). در الکتروفورز محصولات هضم اندونوکلازی از مارکر

جدول ۱- توالی پرایمرها و پروتکل دمایی به کار رفته بر اساس ژن‌های مورد مطالعه

پروتکل سیکل‌ها	تعداد سیکل‌ها	تعداد سیکل‌ها	آنزیم‌های اندونوکلاز	توالی پرایمرها	اندازه قطعه (جفت باز)	نوع ژن	روش به کار رفته
Annealing: ۴۵s Extension: ۹۰ s	۷	۵۸	-----	IR ۱ (۵'GCTGTAGGTGAACCTGCAG CAGCTGGATCATT۳')	۱۱۰۰	ITS-rDNA	Nested-PCR (Firststage)
Annealing: ۴۵s Extension: ۹۰ s	۷	۵۸	BuRI(HaeIII)with cutsite GG↓CCBlunt, ۴ h in ۳۷ °C	IR۲ (۵'G CG GG TA GTCCTGCCAAACACTCAGGTC TG ۳')	۴۸۰	ITS-rDNA	Nested-PCR (Second stage) & RFLP-PCR
Annealing: ۴۵s Extension: ۹۰ s	۷	۵۸	-----	ITS۱F (۵'GCAGCTGGATATTTT CC۳')	۱۸۰	ITS-m i c r osatellite	Standard -PCR
Annealing: ۶۰ s Extension: ۷۲s	۹	۵۰	Ssp۱ with cut site AAT↓ATT: Blunt, ۵ min in ۳۷ °C	ITS۲R۴ (۵'ATATGCA GAA GAGAGG AGG C ۳')	۸۸۰	Cyt b	Standard- PCR RFLP-PCR

جدول ۲- فراوانی نسبی لیشمانیازیس جلدی در سربازان دارای ضایعات مشکوک پوستی بر حسب روش‌های تشخیصی

متغیر	طبقات	گروه	
		تعداد موارد مثبت (درصد)	تعداد موارد منفی (درصد)
نتایج	فقط مولکولار	۶۵ (۴۵)	۲۶ (۱۸)
	فقط پارازیتولوژیک	۱۳ (۰۹)	۷۸ (۵۴)
	هر دو روش مولکولار و پارازیتولوژی	۵۴ (۳۷)	۹۱ (۶۳)
	مجموع نتایج	۱۳۲ (۹۱)	۱۳ (۹)
جمع کل		۱۴۵	

جدول ۳- فراوانی نسبی عملکرد احتمالی روش مولکولی و پارازیتولوژی به تفکیک در سربازان دارای ضایعات مشکوک پوستی

عملکرد احتمالی	روش	
	مولکولی (درصد)	پارازیتولوژی (درصد)
حساسیت	۹۰	۵۱
ویژگی	۱۰۰	۱۰۰
ارزش اخباری مثبت	۱۰۰	۱۰۰
ارزش اخباری منفی	۵۰	۱۷
کارایی	۹۱	۵۵

را از خدمات معمول محروم نمی‌نمود و در صورت درخواست، نتیجه آزمایش در اختیار آنان قرار می‌گرفت، ضمن اینکه کلیه اطلاعات محرمانه باقی ماند. این مطالعه فاقد هرگونه ضرر و زیان جسمی، روانی یا مالی برای افراد مورد پژوهش بود و پژوهشگر خود را پایبند بر مفاد معاهده هلسینکی نمود و اصول اخلاق در نشر کوپ (COPE) نیز رعایت شد.

یافته‌ها

تعداد ۱۴۵ نفر سرباز در طی سال ۱۳۹۸ که دارای ضایعه پوستی بودند، در پادگان زاهدان مورد بررسی قرار گرفتند. به طور کلی فراوانی سربازان مبتلا به لیشمانیازیس جلدی بر حسب مجموع نتایج روش‌های مختلف ۹۱ درصد بود که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

مقایسه تحلیلی نتایج نشان می‌دهد که درصد موارد مثبت بیماری لیشمانیازیس جلدی در سربازان دارای ضایعه پوستی بر حسب فصل (۰/۷۲)، محل ضایعه (۰/۴۶)، سکونت (۰/۷۱) و بومی بودن (۰/۹) از نظر آماری تفاوت معناداری نداشتند. عملکرد احتمالی روش‌های آزمایش در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. طبق نتایج، روش مولکولی دارای حساسیت، ارزش اخباری منفی و کارایی بیشتر نسبت به روش پارازیتولوژی است.

طبق نتایج روش مولکولی، گونه‌ی غالب لیشمانیا در منطقه‌ی مورد

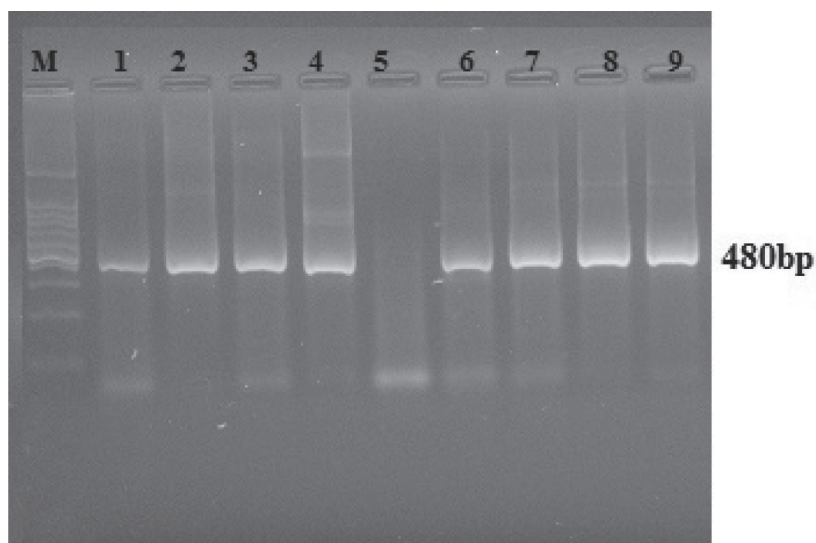
بررسی در بین سربازان دارای ضایعه پوستی، لیشمانیا تروپیکا است که در جدول شماره ۴ نشان داده شده است.

نتایج موارد مثبت حاصل از آزمایش‌های پارازیتولوژی و مولکولی در سربازان دارای ضایعات مشکوک پوستی به ترتیب در اشکال ۱ تا ۵ نشان داده شده است.

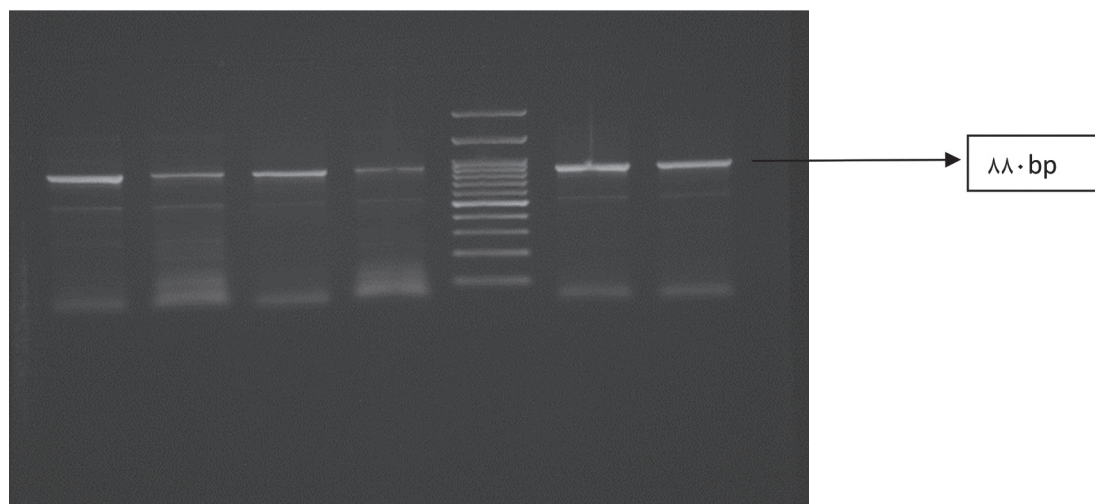
شکل شماره ۴ نتیجه الکتروفورز ژن تکثیر یافته ITS-rDNA در گونه مشخص شده لیشمانیا از شهرستان زاهدان که تحت اثر آنزیم BsuRI (HaeIII) قرار گرفته است. لاین ۲، ۴، ۶ و ۸: لیشمانیا که تحت تأثیر آنزیم قرار نگرفته است. لاین ۱: لیشمانیا تروپیکا که تحت تأثیر آنزیم قرار گرفته است. لاین ۳، ۵، ۷ و ۹: لیشمانیا ماژور که تحت تأثیر آنزیم قرار گرفته است. لاین M: لدر ۱۰۰ bp

جدول ۴- فراوانی نسبی لیشمانیا ماژور و تروپیکا، بر حسب روش مولکولی در سربازان دارای ضایعات مشکوک پوستی

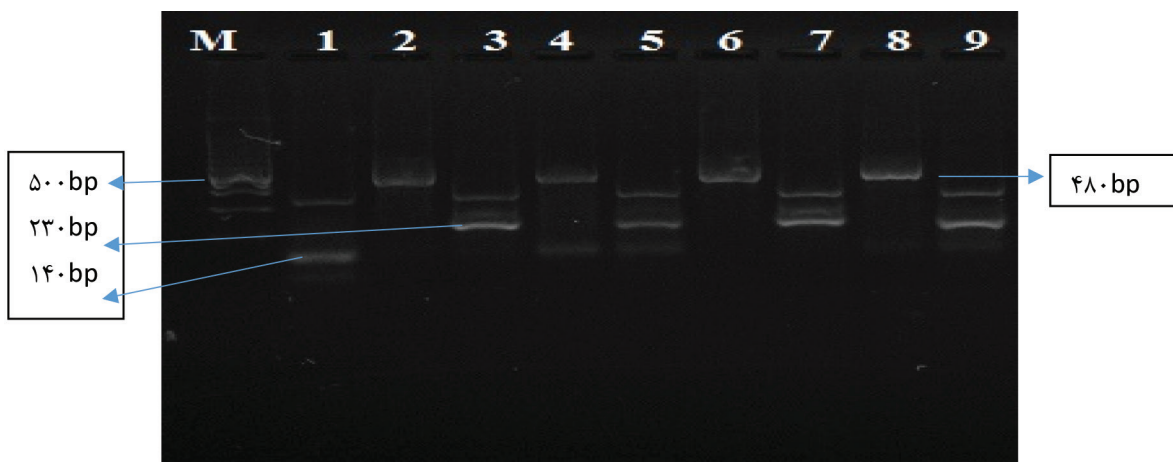
روش	کل	تعداد موارد مثبت (درصد)		تعداد موارد منفی (درصد)	جمع کل (درصد)
		لیشمانیا ماژور	لیشمانیا تروپیکا		
مولکولی	۱۱۹ (۸۲)	۵۱ (۴۳)	۶۸ (۵۷)	۲۶ (۱۸)	۱۴۵ (۱۰۰)



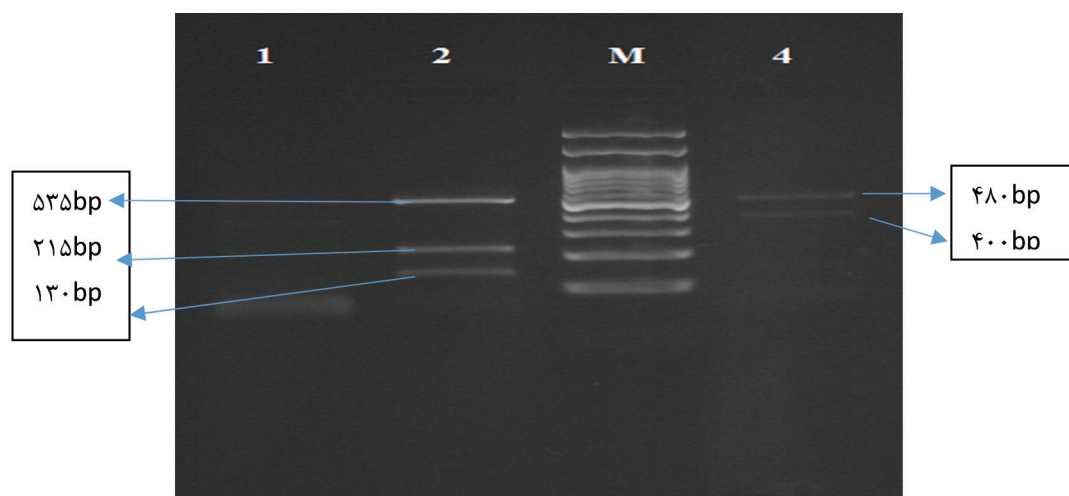
شکل ۲- نتیجه الکتروفورز ژن ITS-rDNA بر روی ژل آگارز ۱ درصد



شکل ۳- نتیجه الکتروفورز ژن سایتو کروم b بر روی ژل آگارز ۱ درصد



شکل ۴- نتیجه الکتروفورز ژن تکثیر یافته ITS-rDNA در گونه مشخص شده لیشمانیا



شکل ۵- نتیجه الکتروفورز ژن تکثیر یافته سیتو کروم b در گونه مشخص شده لیشمانیا

آن‌ها گزارش داده است که به ترتیب ۹/۵ و ۶/۶ درصد بوده است، ضمن اینکه نوع روش مولکولی به کار گرفته شده در آن PCR معمولی بود (۱۴). در حالی که در مطالعه حاضر، جمعیت مورد مطالعه سربازانی که دارای زخم بودند را پوشش داده و نوع روش مولکولی به کار رفته نیز متفاوت بوده و روش RFLP-PCR مورد استفاده قرار گرفت. قابل اشاره است که هم مرزی با کشورهای افغانستان (از کانون‌های مهم لیشمانیازیس جلدی) و پاکستان و مهاجرت‌های انجام شده بین مرزها (۱۰) عامل دخالت کننده در ایجاد آلودگی در منطقه است.

نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، حاصل مجموع ۲ روش تشخیصی مولکولی و پارازیتولوژی است که اطمینان بیشتر در نتیجه تحقیق را همراه دارد. نتایج حاصله از روش مولکولی در تحقیق حاضر، از نظر عملکردهای احتمالی حساسیت، ارزش اخباری منفی و کارایی نسبت به روش پارازیتولوژیک دارای برتری نسبی بود که مشابه تحقیق مطلبی و همکاران است (۱۵) و در تحقیق مذکور نیز اشاره به حساسیت بالای روش مولکولی PCR شده است (۱۵) و این امر تأییدی بر نتایج کسب شده از تحقیق حاضر است.

نوع لیشمانیا غالب در منطقه مورد بررسی در تحقیق حاضر، لیشمانیا تروپیکا (۵۷ درصد) بود که با نتیجه مطالعه میراحمدی و همکاران که در منطقه سیستان و بلوچستان انجام گرفته شده است، مشابه می‌باشد (۱۰) اما با نتیجه‌ی مطالعات دیگر در مناطق میرجاوه، ایرانشهر، چابهار، زابل، نیک شهر و خاش انجام گرفته بود

شکل شماره ۵ نتیجه الکتروفورز ژن تکثیر یافته سیتو کروم b در گونه مشخص شده لیشمانیا از شهرستان زاهدان که تحت اثر آنزیم Ssp۱ قرار گرفته است. لاین ۲ و ۱: لیشمانیا تروپیکا که تحت تأثیر آنزیم قرار گرفته است. لاین ۴: لیشمانیا ماژور که تحت تأثیر آنزیم قرار گرفته است. لاین M: لدر ۱۰۰ bp

بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر تعداد ۱۴۵ سرباز در زاهدان با هدف تعیین فراوانی لیشمانیازیس جلدی دارای ضایعات مشکوک پوستی مورد مطالعه قرار گرفتند. طبق نتایج به دست آمده از این مطالعه، توزیع فراوانی لیشمانیازیس جلدی در بین جمعیت مورد مطالعه بالا است (۹۱ درصد). توزیع فراوانی لیشمانیازیس جلدی در سربازان دارای ضایعات مشکوک پوستی بر حسب فصول سال اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد. طبق نتایج، روش مولکولی دارای حساسیت، ارزش اخباری منفی و کارایی بیشتر نسبت به روش پارازیتولوژی است و درصد آلودگی به لیشمانیا تروپیکا نسبت به لیشمانیا ماژور بیشتر بود.

توزیع آلودگی در مطالعه‌ی حاضر نسبت به مطالعه‌ی مشابه در منطقه میرجاوه بیشتر است (۱۴) که این تفاوت می‌تواند به تفاوت در جمعیت مورد بررسی به لحاظ شغلی، داشتن و نداشتن زخم در بدو نمونه‌گیری و همچنین نوع روش تشخیصی به کار گرفته شده، ارتباط داشته باشد. مطالعه فاضلی و همکاران، افراد معمولی جامعه را پوشش داده و درصد زخم‌های کهنه (اسکار) و فعال را در بین

جلدی در بین سربازان دارای زخم پوستی، بالا است. قابل اشاره است که جامعه‌ی مورد مطالعه در این تحقیق، دارای ویژگی‌های خاص خود بود و جمعیت سربازان نظامی که دارای زخم پوستی بودند را در برداشت که در عین حال جمعیت شهری و بومی آن نیز خود از مناطق نسبتاً محرومی محسوب می‌شدند و از مشخصات یک شهر صنعتی نسبتاً پیشرفته برخوردار نبودند و به نظر می‌رسد، چنین متغیرهای زمینه‌ای غیر معمول، به طور غیر مستقیم در حصول نتایج متفاوت نسبت به سایر بررسی‌ها تأثیرگذار باشد. ضمن اینکه در سالیان اخیر شرایط آب و هوایی و اقلیمی مناطق مختلف کشور دستخوش تغییرات شگرفی شده است که خود عامل دخالت کننده در ایجاد تغییر بر نحوه‌ی پراکندگی بیماری‌های واگیر خواهد بود. روش مولکولی در تشخیص انگل لیشمانیا نسبت به روش پارازیتولوژی دارای برتری نسبی بود و گونه‌ی غالب در منطقه‌ی مورد مطالعه نیز لیشمانیا تروپیکا بود.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مورد تصویب دانشگاه علوم پزشکی آجا در تاریخ ۹۷/۷/۲ و با شماره ثبت ۵۹۷۴۱۸ می‌باشد و نویسندگان این مقاله مراتب تشکر خود را از دانشگاه‌های علوم پزشکی آجا، مرکز تحقیقات زاهدان و پادگان زاهدان ابراز می‌دارند.

تضاد منافع

بدین وسیله نویسندگان تصریح می‌نمایند که هیچ گونه تضاد منافی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

- Shaddel M, Mirzaei Dizgah I, Sharif F. The prevalence of toxoplasmosis in Imam Reza Hospital blood bank samples, Tehran, Iran. *Transfus Apher Sci*. 2014;51(2):181-3. <http://dx.doi.org/10.1016/j.transci.2014.08.017> www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25219635
- Parvin Z, Iraj MD, Minoos S, Fatemeh K. Effects of Toxoplasma gondii infection on anxiety, depression and ghrelin level in male rats. *J Parasit Dis*. 2016;40(3):688-93. <http://dx.doi.org/10.1007/s12639-014-0561-0> www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27605768
- Wasak-Szulowska E, Grabarczyk P, Rzepecki P. Pure red cell aplasia due to parvovirus B19 infection transmitted probably through hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2008;10(3):201-5. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3062.2007.00266.x> www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17631000
- Shamsi HS, Yakhchali M, Akbarzadeh M, Raoufi N, Tavakoli P, Dastgheib M, et al. The antileishmanial activity of Aloe vera leaf exudates: in vitro and in vivo. *Iran J Dermatol* 2019;22:18-24.
- Hajilooi M, Sardarian K, Dadmanesh M, Matini M, Lotfi P, Bazmani A, et al. Is the IL-10 -819 polymorphism associated with visceral leishmaniasis? *Inflammation*. 2013;36(6):1513-8. <http://dx.doi.org/10.1007/s10753-013-9693-0> www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23912644

- 6- Shaddel M, Sharifi I, Karvar M, Keyhani A, Baziar Z. Cryotherapy of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* in BALB/c mice: A comparative experimental study. *J Vector Borne Dis.* 2018;55(1):42-6. <http://dx.doi.org/10.4103/0972-9062.234625> www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29916447
- 7- Bamorovat M, Sharifi I, Aflatoonian MR, Sharifi H, Karamoozian A, Sharifi F, et al. Risk factors for anthroponotic cutaneous leishmaniasis in unresponsive and responsive patients in a major focus, southeast of Iran. *PLoS One.* 2018;13(2):e0192236. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0192236> www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29415078
- 8- Khosravi A, Sharifi I, Fekri A, Kermanizadeh A, Bamorovat M, Mostafavi M, et al. Clinical features of anthroponotic cutaneous leishmaniasis in a major focus, Southeastern Iran, 1994–2014. *Iranian Journal of Parasitology.* 2017;12(4):544.
- 9- Aflatoonian MR, Sharifi I, Aflatoonian B, Shirzadi MR, Gouya MM, Kermanizadeh A. A review of impact of Bam earthquake on cutaneous leishmaniasis and status: epidemic of old foci, emergence of new foci and changes in features of the disease. *Journal of Arthropod-borne Diseases.* 2016;10(3):271.
- 10- Mirahmadi H, Khorashad AS, Sohrabnabad A, Heydarian P, Bizhani N. Species identification and molecular typing of *Leishmania* spp. using targeting HSP70 gene in suspected patients of cutaneous leishmaniasis from Sistan and Baluchestan Province, Southeast Iran. *Iranian Journal of Parasitology.* 2016;11(4):489.
- 11- Soltani S, Foroutan M, Hezarian M, Afshari H, Kahvaz MS. Cutaneous leishmaniasis: an epidemiological study in southwest of Iran. *J Parasit Dis.* 2019;43(2):190-7. <http://dx.doi.org/10.1007/s12639-018-1073-0> www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31263323
- 12- Mirahmadi H, Rezaee N, Mehravaran A, Heydarian P, Raeghi S. Detection of species and molecular typing of *Leishmania* in suspected patients by targeting cytochrome b gene in Zahedan, southeast of Iran. *Vet World.* 2018;11(5):700-5. <http://dx.doi.org/10.14202/vetworld.2018.700-705> www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29915511
- 13- Claborn D, Masuoka P, Morrow M, Keep L. Habitat analysis of North American sand flies near veterans returning from leishmania-endemic war zones. *Int J Health Geogr.* 2008;7:65. <http://dx.doi.org/10.1186/1476-072X-7-65> www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19094218
- 14- Fazaeli A, Fouladi B, Sharifi I. Emergence of cutaneous leishmaniasis in a border area at south-east of Iran: an epidemiological survey. *Journal of vector borne diseases.* 2009;46(1):36.
- 15- Motalleb G, Mirahmadi H, Zare-Zadeh A, Mehravaran A. Cytochrome b and molecular typing of *Leishmania* spp. in a passive sampling of suspected patients with cutaneous Leishmaniasis in Sistan and Baluchestan Province, Eastern Iran. *Iranian Journal of Parasitology.* 2017;12(4):534.
- 16- Parvizi P, Moradi G, Akbari G, Farahmand M, Ready PD, Piazak N, et al. PCR detection and sequencing of parasite ITS-rDNA gene from reservoirs host of zoonotic cutaneous leishmaniasis in central Iran. *Parasitol Res.* 2008;103(6):1273-8. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-008-1124-z> www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18791741
- 17- Spotin A, Rouhani S, Parvizi P. The associations of *Leishmania major* and *Leishmania tropica* aspects by focusing their morphological and molecular features on clinical appearances in Khuzestan province, Iran. *BioMed research international.* 2014;2014. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/913510>
- 18- Ayubi E, Barati M, Dabbagh Moghaddam A, Reza Khoshdel A. Spatial modeling of cutaneous leishmaniasis in Iranian army units during 2014-2017 using a hierarchical Bayesian method and the spatial scan statistic. *Epidemiol Health.* 2018;40:e2018032. <http://dx.doi.org/10.4178/epih.e2018032> www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30056641