

## دراسة وبائية وتشخيصية لداء الليشمانيا الجلدي في محافظة كركوك

حسين فاضل حسن<sup>1</sup> ، عبدالله صالح أحمد<sup>2</sup>

<sup>1</sup>قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة كركوك

<sup>1</sup>h.fahel@yahoo.com

<sup>2</sup>وزارة التربية / كركوك

<sup>2</sup>abdullaal65@yahoo.com

تاريخ قبول البحث: 2015 / 4 / 13

تاريخ استلام البحث: 2014 / 11 / 11

### الملخص

تم من خلال هذا البحث دراسة 1600 حالة من المصابين او المشكوك بإصابتهم بداء الليشمانيا الجلدية في محافظة كركوك من بداية شهر كانون الثاني حتى نهاية شهر كانون الأول 2013، حيث بلغت الحالات الإيجابية 146 حالة توزعت على أفضية المحافظة وهي قضاء كركوك ، قضاء الحويجة ، قضاء الدبس وقضاء داقوق ، وسجلت اعلى نسبة ( 20.5 % ) لعدد الإصابات في قضاء الحويجة وأقل نسبة ( 3.5 % ) إصابة في قضاء كركوك .تبين ان اعلى نسبة إصابة بالليشمانيا الجلدية كانت لدى الإناث ( 61.64 % )،وأظهرت الفئة العمرية(1-5) سنة اعلى نسبة إصابة بالليشمانيا الجلدية (50%) فيما سجلت أدنى نسبة إصابة للفئة العمرية (20-25) سنة (2.05%) وسجلت أعلى نسبة إصابة خلال شهر كانون الثاني (24.62%) وأدناها خلال شهر حزيران ، تموز وآب (0.75%) . أما فيما يتعلق بتوزيع الآفات الجلدية فقد سجلت أعلى نسبة على المناطق المكشوفة من الجسم (الأطراف العلوية والسفلية والوجه) . وقد تراوح الشكل السريري لآفة بين الدملي والدملي المقشر والقرحي المقشر . ولدى إجراء الفحص المجهرى المباشر لوحظت العناصر الطفيلية عديمة السوط (الاماستيجوت) في 93 حالة وازداد عدد الحالات الإيجابية الى 122 حالة لدى إجراء الاستنبات على الوسط الزرعي .وعند إجراء اختبار الاليزا على 146 عينة مصل و 20 عينة شاهدة (سيطرة) حصلنا على 138 عينة إيجابية وبنسبة (94.5%) بالمقارنة مع عدد العينات الإيجابية التي تم تشخيصها بالطرائق التقليدية والتي بلغ عددها 122 حالة اي بنسبة (83.5%) في حين كانت نتيجة اختبار الاليزا المطبق على

المصول الشاهدة سالبة . وفي الجانب الآخر أكدت نتائج الدراسة الحالية ان تقنية سلسلة تفاعل البلمرة هي طريقة حساسة ودقيقة وان تكون بديلا عن الفحص التقليدي في تشخيص داء الليشمانيا الجلدي . وكما أثبتت الدراسة الحالية وجود الليشمانيا الجلدية المتسببة عن الطفيلي ليشمانية ميجر *Leishmania major* في قضاء الحويجة .  
الكلمات الدالة: وباء ، تشخيص ، الليشمانيا الجلدية ، كركوك.

## Epidemiological and diagnostic studies of cutaneous leishmaniasis in Kirkuk Governorate

<sup>1</sup>Husain F. Hassan , <sup>2</sup>Abdullah S. Ahmad

<sup>1</sup>Department of Biology / College of Science / University of Kirkuk

<sup>1</sup>[h.fahel@yahoo.com](mailto:h.fahel@yahoo.com)

<sup>2</sup>Ministry of Education / Kirkuk

<sup>2</sup>[abdullaal65@yahoo.com](mailto:abdullaal65@yahoo.com)

Received date: 11 / 11 / 2014

Accepted date: 13 / 4 / 2015

### ABSTRACT

*In this investigation the total of 1600 cases or suspected cases of leishmaniasis were evaluated in Kirkuk gover province from January to December 2013 . One hundred forty six cases were found to be positive that were distributed among the four districts including Kirkuk , Hawija , Dubis , and Dakook. The highest infection rate was reported in Hawija (20.5%) whereas the lowest infection rate was in Kirkuk (3.5%) . In this study the cutaneous disease was more frequent in females (61.64%). The highest infection rate of cutaneous disease (50%) were found with age group(1-5) years while the lowest infection rate (2.05%) were at age group (20-25) years . Also the highest infection rate of cutaneous disease (24.62%) was recorded in January and the lowest rate in June , July and August . Most lesions located on exposed body sites (arms, hands, head and legs). The clinical features of the lesions were furunclar, ulcerative and some lesions were covered by firmly adherent crust and others were edematous.*

*By using direct microscopic test , amastigotes were detectable in 93 cases , and the positive cases were increased to 122 cases by realizing the parasite culture in to diphasic NNN media, which conform the diagnosis. The examination of 146 serum sample plus 20 control serum sample by ELISA revealed 138 positive results (94.5%) as compared to 122 positive sample (83.5%) which were examined by classic methods . The examination of control sample by ELISA were all negative . On the other hand, the using of PCR was found to be very sensitive and useful for diagnosing cutaneous leishmaniasis and can provide a better understanding of the epidemiology of cutaneous leishmaniasis in the endemic areas . This study revealed the presence of leishmaniasis caused by Leishmania major in Hawija district .*

**Keywords:** *Epidemiology ,Diagnosis,Cutaneousleishmaniasis ,Kirkuk .*

## 1. المقدمة (Introduction)

طفيلي الليشمانية جنس من سوطيات الدم التريبانوسومية تسبب أنواعه طائفة من الأمراض بعضها جلدي Cutaneous leishmaniasis وبعضها جلدي مخاطي يمتد إلى الأغشية المخاطية Mucocutaneousleishmaniasis وبعضها جهازية حشوي Visceral leishmaniasis . ويعد داء الليشمانيات من الأمراض المستوطنة في 88 بلدا منها 77 بلدا ناميا في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية في العالم وتصيب الملايين من البشر إذ تقدر نسبة الإصابة بـ 1 - 1,5 مليون حالة ليشمانيا جلدية و 0.5 مليون حالة ليشمانيا حشوية كما تقدر نسبة المعرضين لخطر الإصابة بحوالي 350 مليون شخص مع نسبة انتشار كلية تقدر 12 مليون شخص [1].

وبصرف النظر عن الأعداد الكبيرة من المرضى المصابين بهذا المرض ، فإن مشاكل الصحة العامة المتعلقة بداء الليشمانيات متعددة ، ففي الوقت الحاضر لا يمكن منعها ، وتقتصر تدابير مكافحة على علاج الأفراد الذين تكتشف إصابتهم بالعدوى ، وعلى بعض إجراءات الوقاية الشخصية . ذلك إن مكافحة ناقلات المرض والحيوانات الخازنة له في البيئة غير ممكن عمليا في البراري الشاسعة التي يحدث فيها التعرض ، بالإضافة إلى ذلك لا يوجد لقاح ضد المرض [2].

وفي السنوات العشر الاخيرة سجلت عدد من البؤر الجديدة لداء الليشمانيا الجلدي في العراق وحدثت زيادة ملحوظة في عدد الإصابات في مناطق لم تتعرض سابقا للإصابة وحيث لا يعرف عن مدى انتشار المرض ومعدلات الإصابة به والوفيات الناشئة عنه إلا القليل من المعلومات ، وهذه المعلومات القليلة المتاحة توضح إن المرض حيواني المصدر ويحدث في المناطق الزراعية الواطئة وحول مشاريع تنمية موارد المياه[3-6].

ونظراً لتفاقم هذه المشكلة الصحية ، فقد هدفت الدراسة الى تسليط الضوء على واقع داء الليشمانيا الجلدي في محافظة كركوك وأقصيتها وتشخيص الاصابات بطرق دقيقة للإسراع بمعالجتها .كما تهدف الدراسة الى عزل الطفيلي وتكثيره ليصار الى تحديد الأنواع المسببة لداء الليشمانيات وربط هذه الأنواع بالشكل السريري لكل آفة ، أملين بذلك تقديم مساهمة جادة في الحد من الارتفاع في عدد الإصابات والقضاء على هذه الأمراض.

## 2.المواد وطرق العمل (Materials and Methods)

### جمع العينات:

شملت الدراسة محافظة كركوك التي تبعد عن العاصمة بغداد (240) كيلومتراً شمالاً ويبلغ عدد سكانها (851,000) نسمة . تضم المحافظة أربعة أقضية هي قضاء كركوك ، قضاء الحويجة ، قضاء دافوق وقضاء الدبس ، حيث يمتن الغالبية العظمى من السكان الذين يقطنون في المناطق الريفية الزراعة وتربية المواشي ويغلب الطابع الريفي على حياتهم اليومية ، أذ جمعت (1600) عينة من محطات الدراسة المختلفة في محافظة كركوك بصورة عشوائية للفترة من شهر كانون الثاني 2013 لغاية شهر كانون الأول 2013 خلال الزيارات الميدانية لسكان القرى والنواحي والأقضية ، فضلا عن العينات التي جمعت من الأشخاص الوافدين إلى المستشفيات ومختبرات الصحة المركزية وقد تم الحصول على المعلومات الشخصية لكل حالة، وتتضمن عمر المصاب ، مكان عمله ، مكان اقامته ، نمط الاصابة ، موقعها ، عمرها ، قطرها ، عددها ، كثافة حشرة ذباب الرمل (العامل الناقل) داخل المنزل وخارجه .

وشملت العينات التي تم أخذها من مجموعة المصابين أو المشكوك بإصابتهم.

1- عينات الدم التي تم سحبها من الوريد .

2- عينات الدم التي تم سحبها من القرحة (الآفة) .

3- النسيج الذي اخذ من قمة القرحة (الآفة) .

تم اجراء الفحص للمصابين بالليشمانيا الجلدية بعمل مسحة من حافة الإصابة وتلوينها بصبغة الگيمزا وفحصها بالمجهر باستخدام العدسة الزيتية بقوة تكبير 100X للكشف عن وجود الأجسام الليشمانية ، وعند التأكد من وجودها تعتبر النتيجة موجبة. وكما تم الحصول على أمصال من أشخاص اصحاء عدد (20) لم يتعرضوا للإصابة سابقا ويقطنون في مناطق غير موبوءة بالليشمانية كشاهد سلبي (مجموعة سيطرة) control . حفظت جميع الأمصال في درجة حرارة ( 20 - ) درجة مئوية الى حين الاستعمال .

#### الاستنبات:

تم عزل طفيليات الليشمانيا وإستنباتها (من جميع الحالات المدروسة إيجابية الفحص المباشر وسلبيته) على الوسط الزرعي NNN تمهيدا للتفتيش عن العناصر الطفيلية المغزلية أمامية السوط بعد 24-48 ساعة كما ورد في دراسة Shaaban وزملائه عام 2003[7].

### 3. اختبار المقايسة المناعية الانزيمية (ELISA)

نستخدم في هذا الاختبار الكاشف (CELLABS , LeishmaniasisIgG-CELISA) الخاص بالكشف عن الأضداد النوعية لليشمانيا الجلدية في مصول المرضى المصابين بداء الليشمانيا الجلدي . فقد تم حضن صفائح الاليزا المعلمة بمستضدات الأشكال المسوطة لطفيليات الليشمانيا الجلدية مع عينات المصل البشرية (اصحاء ومصابين) الممددة بدارئة للعينة 1:100 مدة ساعتين بدرجة حرارة الغرفة وفي مكان رطب ثم غسلت الصفائح 4 مرات بدارئة الغسيل تمهيدا لحضنها مع ضد IgG البشري المعلم بالبيريوكسيداز مدة نصف ساعة وبالشروط السابقة نفسها للحضن. وبعد تكرار عملية الغسل 4 مرات اضيف اليها الركيزة الانزيمية وتركت مدة نصف ساعة في الظلام بدرجة حرارة الغرفة . تم قراءة هذه الصفائح بعد إيقاف التفاعل بإضافة حامض الفوسفات بتركيز واحد مولاري، باستخدام قارئ الاليزا Digiscan وعلى طول موجة قدره 450 نانوميتر . وقد اعتمدت قيمة شدة الامتصاصية الضوئية OD= 0.2 nm وهي الحد الفاصل Cutoff بين درجة الإيجابية والسلبية للعينات المفحوصة.



## 5. النتائج والمناقشة Results and Discussion

أظهرت النتائج **جدول(1)** ان عدد الحالات الإيجابية بالخمج الجلدي كانت 146 وينسبة كلية بلغت 9.12% في حين بلغ عدد الحالات الإيجابية بالخمج الإحشائي 4 حالات وينسبة كلية بلغت حوالي 0.25% وكما يلاحظ في **الجدول (1)** ان أكثر حالات الخمج الجلدي كانت في قضاء الحويجة أذ بلغت 82 حالة إيجابية وينسبة 20.5% تلاها قضاء الدبس بواقع 32 حالة إيجابية وينسبة 8% ثم قضاء داقوق بواقع 18 حالة إيجابية وينسبة 4.5% وقضاء كركوك بواقع 14 حالة إيجابية وينسبة 3.5% . وقد يعود السبب في النسبة العالية للخمج في قضاء الحويجة كون هذه المنطقة من الاماكن الموبوءة المسجلة سابقا (6) والتي تتوفر فيها كل عوامل الانتشار لداء الليشمانيا من مناطق ريفية زراعية تحيط بها اراضي رملية توفر بيئة مثالية للحشرة الناقلة. وعند مقارنة عدد الحالات المصابة بداء الليشمانيا في محافظة كركوك مع عدد الحالات في محافظات العراق الاخرى لوحظ بانها مقاربة لما سجل في ديالى[4] وذي قار [9] والقادسية [10] والديوانية [11] . وفي الوقت نفسه يعود السبب في النسبة الواطئة للخمج في قضاء كركوك كونه مركز المحافظة وبعيد عن المنطقة الموبوءة فضلا عن الظروف الاجتماعية وعدم تربية الحيوانات في البيوت يضاف الى ذلك مكافحة الحشرات داخل المنازل . إن التفاوت في نسب الخمج بين أفضية المحافظة يعزى الى الاختلافات في الظروف البيئية والاجتماعية المحيطة بالمصابين اضافة الى عامل التغذية الذي يعد من العوامل المهمة خاصة قبل التعرض للإصابة وهذا ما اثبتته [12] في دراسته.

**جدول(1):** نسبة الإصابة بداء الليشمانيا الجلدية في محافظة كركوك.

المنطقة	عدد المشمولين بالدراسة	عدد المصابين بالليشمانيا الجلدية	
		الذكور	الإناث
قضاء كركوك	400	8	6
قضاء الحويجة	400	30	52
قضاء الدبس	400	12	20
قضاء داقوق	400	6	12
المجموع	1600	56	90

كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية من التحليل الإحصائي وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال 5% للأخماج الجلدية بين الأجناس في مواقع الدراسة حيث سجلت 90 حالة إيجابية في الإناث وبنسبة 61.64% بينما سجلت 56 حالة إيجابية في الذكور وبنسبة 38.35% كما موضح في جدول(2). وهذه النسبة لا تتفق مع ما وجدته كل من [13,4] بكون نسبة إصابة الذكور أعلى منها في الإناث ، ولا تتفق هذه الدراسة مع ما سجله كل من [15,14] بكون داء الليشمانيات يصيب كلا الجنسين بصور متساوية . وقد يرجع السبب الى البيئة الطبيعية والاجتماعية والسلوكية للأفراد فضلا عن التماس القريب مع المضائف الخازنة للمرض داخل الدور السكنية للمصابين والذي له دور مهم في وبائية المرض.

**جدول(2): نسبة إصابة الذكور والإناث بداء الليشمانيات الجلدية في محافظة كركوك حسب الطريقة المباشرة.**

العقد الكلي للمشمولين بالدراسة	عدد الحالات الإيجابية	% للحالات الإيجابية	عدد الذكور	% لإصابة الذكور	عدد الإناث	% لإصابة الإناث
1600	146	9.12	56	38.35	90	61.64

يبين الجدول(3) توزيع الإصابات بالليشمانيات الجلدية حسب الفترة الزمنية للدراسة إذ سُجلت ذروة الأخماج في شهر كانون الثاني وبنسبة 24.62% ثم انخفضت في شهر نيسان واستمرت بالانخفاض حتى نهاية شهر آب وكانت أقلها في حزيران وتموز وآب حيث كانت نسبة الإصابة 0.75% . والجدير بالذكر ان معدلات الإصابة تدرجت بالارتفاع في تشرين الأول وتشرين الثاني وكانون الأول .

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فروقات معنوية على مستوى احتمال 5% حسب اختبار T.test لنسب الإصابة بين شهر كانون الثاني وشهر كانون الأول وكذلك عدم وجود فروقات معنوية لنسب الإصابة بين شهر شباط وشهر تشرين الثاني الأمر الذي يدل على عدم وجود علاقة بين الخمج بالليشمانيات الجلدية خلال أشهر السنة . وهذا يتفق مع ما وجدته الباحثون(17,16,13,4) وقد يعزى الاختلاف في توزيع الإصابات على أشهر السنة المختلفة الى تأثير



العوامل المناخية من درجة الحرارة والرطوبة على نشاط الحشرة الناقلة حيث وجد ان كثافة الوسيط الناقل تزداد في الفترة الممتدة من شهر آب الى شهر تشرين الاول وبذلك يزداد تعرض الاشخاص الى لدغة الحشرات و ثم بعد فترة حضانة تمتد من شهرين الى اربعة اشهر تبدأ ظهور الاعراض خلال الاشهر الممتدة من شهر تشرين الاول الى شهر شباط ومن ثم تبدأ نسبة الإصابة بالانخفاض في الأشهر اللاحقة.

**جدول(3):** نسب الإصابة بداء الليشمانيا الجلدية حسب أشهر السنة في محافظة كركوك حسب الطريقة المباشرة.

أشهر السنة	عدد المفحوصين	عدد الحالات الإيجابية	النسبة المئوية للإصابة
كانون الثاني	134	33	24.62
شباط	134	24	17.91
آذار	134	12	8.95
نيسان	134	5	3.73
مايس	133	3	2.25
حزيران	133	1	0.75
تموز	133	1	0.75
آب	133	1	0.75
ايلول	133	4	3.00
تشرين اول	133	11	8.27
تشرين ثاني	133	22	16.54
كانون اول	133	29	21.80
المجموع الكلي	1600	146	9.12

وعند إجراء التحليل الإحصائي لنسب الإصابة بالليشمانيا الجلدية بين الذكور والإناث خلال الفترة الزمنية للدراسة جدول(4) أظهرت النتائج وجود فروقات معنوية على مستوى احتمال 5% بين تكرار نسب الإصابة في الفترة الزمنية المختلفة والمحسوبة لكل شهر من أشهر السنة. وكما أظهرت النتائج عدم وجود فروقات معنوية بين أشهر كانون الثاني وشباط وآذار وتشرين الأول وتشرين الثاني وكانون الأول لنسب إصابة الذكور إلا أنه تفوقت جميعا بفارق معنوي على أشهر حزيران وتموز وآب لنسب إصابة الذكور، وكذلك بالنسبة للإناث.

**جدول(4): التوزيع الشهري لنسب الإصابة بداء الليشمانيا الجلدي حسب الجنس خلال اشهر الدراسة**

أشهر السنة	عدد المفحوصين	عدد المصابين	عدد الحالات الإيجابية للذكور	% للإصابة في الذكور	عدد الحالات الإيجابية للإناث	% للإصابة في الاناث
كانون الثاني	134	33	13	39.39	20	60.6
شباط	134	24	10	41.66	14	58.33
آذار	134	12	5	41.66	7	58.33
نيسان	134	5	2	40	3	60
مايس	133	3	1	33.33	2	66.66
حزيران	133	1	0	0.0	1	100
تموز	133	1	0	0.0	1	100
آب	133	1	0	0.0	1	100
ايلول	133	4	2	50	2	50
تشرين اول	133	11	4	36.36	7	63.63
تشرين ثاني	133	22	8	36.36	14	63.63
كانون اول	133	29	11	37.93	18	62.06
المجموع الكلي	1600	146	56	38.35	90	61.64

يبين الجدول (5) العلاقة بين عدد الحالات الإيجابية بالخمج الجلدي بحسب الفئات العمرية حيث سجلت الفئة العمرية من 1-5 سنوات أعلى نسبة إصابة وكانت 50% بواقع 29 حالة إيجابية في الذكور بنسبة 19.86% و 44 حالة إيجابية في الإناث بنسبة 30.13% بينما كانت أقل نسبة مئوية في الفئة العمرية 20-25 سنة إذ بلغت 2.05% بواقع حالة واحدة إيجابية في الذكور بنسبة 0.68% وحالتين إيجابيتين في الإناث بنسبة 1.36%. ومن التحليل الإحصائي تبين وجود فروقات معنوية بمستوى احتمال 5% بين تكرار نسب الخمج وبين الفئات العمرية المختلفة. وهذا يتفق مع ما وجدته العديد من الباحثين [3,4,6,13]. وقد يعزى السبب إلى ازدياد حركة ونشاط الأطفال في هذا العمر مما يزيد من احتكاكهم مع المحيط الخارجي فضلا عن عدم اكتمال نمو وتطور الجهاز المناعي لديهم، علاوة على عدم وجود عامل Euglobulin الذي يوجد في البالغين والذي يساعد على تحطيم الطفيلي. وكما أن التعرض المتكرر للطفيلي للفئات العمرية (5-10) سنة قد يحفز الجهاز المناعي ليهم ويصبح أكثر تطورا مما يؤدي إلى انخفاض نسبة الإصابة بالداء بينهم. وكما أن انخفاض نسبة الإصابة في الأطفال دون السنة من العمر قد يعزى إلى محدودية حركتهم مما يقلل من فرصة تماسهم مع الوسيط الناقل فضلا عن طول فترة حضانة الطفيلي أو الفترة اللازمة لظهور أعراض المرض [18].

**جدول(5): نسبة الإصابة بالليشمانيا الجلدية حسب الجنس والفئة العمرية في محافظة كركوك.**

الفئة العمرية	ذكور	% للإصابة	الإناث	% للإصابة	المجموع	النسبة المئوية
دون سنة من العمر	2	1.36	5	3.42	7	4.79
5 - 1	29	19.86	44	30.13	73	50.00
10 - 5	14	9.58	22	15.06	36	24.65
15 - 10	6	4.1	9	6.16	15	10.27
20 - 15	2	1.36	5	3.42	7	4.79
25 - 20	1	0.68	2	1.36	3	2.05
>30 - 25	2	1.36	3	2.05	5	3.42
المجموع	56	38.35	90	61.64	146	99.97

يوضح الجدول(6) النسب المئوية لعدد الآفات الجلدية التي سُجلت خلال فترة الدراسة وبلغت عدد الحالات الإيجابية من الذين أصيبوا بأفة واحدة للفرد 49 حالة ونسبة 33.5% في حين سجلت 39 حالة إيجابية من الذين أصيبوا بالآفات المتعددة (4 آفات أو أكثر) ونسبة 26.6% ومن خلال التحليل الإحصائي تبين وجود علاقة معنوية بين الخمج وعدد الآفات ، إذ إن عدد الأخماج بأفة واحدة كانت قيمتها عالية وبلغت عددها 49 وأقلها الخمج بخمس آفات وبلغت عددها 16 حالة إيجابية.

جدول(6): عدد الآفات الجلدية ونسبها المئوية خلال فترة الدراسة في محافظة كركوك .

عدد الآفات	عدد الاصابات	النسبة المئوية
آفة واحدة	49	33.5
آفتان	31	21.2
ثلاث آفات	27	18.4
أربع آفات	23	15.7
خمس آفات	16	10.9
المجموع	146	9.12

يوضح الجدول(7) توزيع الأخماج الجلدية حسب موقعها بين الأطفال والبالغين وكانت نسبة الإصابة بين الاطفال 89.7% أكبر مما هو موجود في البالغين 10.2% حيث شكلت أخماج الوجه في الأطفال نسبة 60.2% وفي البالغين نسبة 4.7% . ومن خلال التحليل الإحصائي تبين وجود فروقات معنوية على مستوى احتمال 5% بين أعداد الإصابة بالآفات وموقعها على الجسم وكانت الإصابة بالدرجة الاولى بالوجه وتلاها الأطراف العليا وأقلها كانت بالأطراف السفلى ، هذا وقد تراوح قطر الآفات من 6 مليمترات الى 6.5 سنتيمترات ، وكما تراوح عمر هذه الآفات من 15 يوما الى 18 شهرا وكانت هذه الآفات موجودة على الأماكن المكشوفة من الجسم والتي تعرضت غالبا للدغ الحشرة الفاصدة *Phlebotomus* شكل (1-3) وقد تراوح الشكل السريري للآفة بين الدملي والدملي المنقشر وفي بعض الحالات بالقرحي المنقشر .

كما تبين في الدراسة الحالية ان اعلى نسبة للآفات كانت موزعة على الاماكن المكشوفة والتي تعرضت للدغ اثناء نشاط الحشرة ، ونجد مثل هذه النتائج في الكثير من الدراسات الوبائية [6,4] حيث يمكن لهذه الآفات ان تشفى تلقائيا خلال 6-12 شهرا اذا لم تعالج ، لكن هؤلاء الاشخاص يؤدون دور الخازن ، كما يؤدي السلوك الانساني دورا مهما في التأثير على سلوك ذبابة الرمل اذ تنجح الى اخذ وجبات الدم من وقت الغروب الى الشروق ومن الاماكن المكشوفة من الجسم ، كما يؤدي تغير البيئة وتنقلات المصابين دون متابعة العلاج مع توفر العامل الناقل الى حدوث مناطق جديدة لاستيطان هذا الداء الجلدي ولذلك ينصح بعد تشخيص الافة باتباع البرنامج العلاجي الذي توفره وزارة الصحة مجانا.

**جدول(7): توزيع الآفات الجلدية بحسب موقعها في الأطفال والبالغين في محافظة كركوك .**

النسبة المئوية للإصابة	عدد الإصابات في البالغين	النسبة المئوية للإصابة	عدد الإصابات في الاطفال	موقع الإصابة
4.7	7	60.2	88	الوجه
3.4	5	18.4	27	الأطراف العليا
2.0	3	10.9	16	الأطراف السفلى
10.2	15	89.7	131	المجموع



شكل(1): أطفال مصابين بحبة بغداد في قضاء الحويجة وتظهر الآفة على الوجه والجبين والانف واليد والساق.





شكل(2): آفة حبة بغداد تغطيها قشرة واضحة في منطقة الإصابة على اليد والوجه في مرضى قضاء الحويجة.



شكل(3): حالات حبة بغداد في قضاء الحويجة وتظهر آفة واحدة أو آفتين أو ثلاثة أو أكثر.

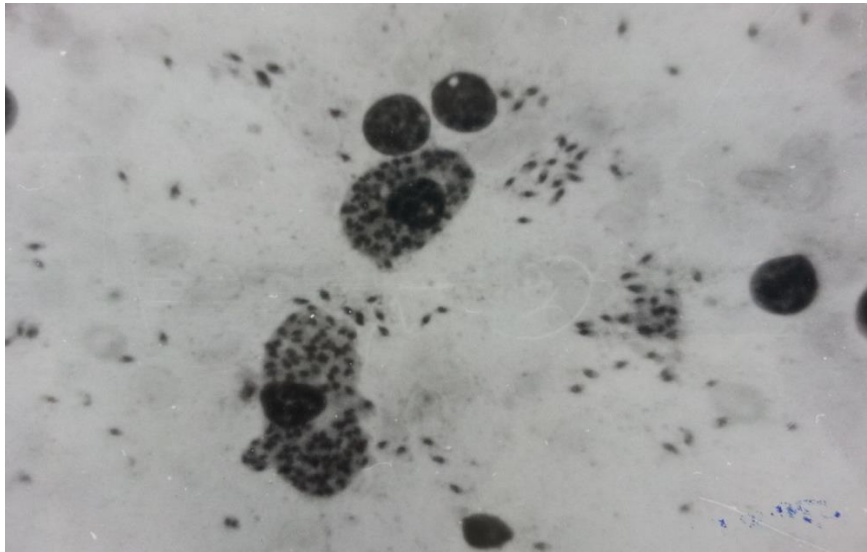


## 6. الفحوصات المصلية

لدى اجراء اختبار الفحص المجهرى المباشر لجميع الحالات المدروسة شوهدت العناصر الطفيلية عديمة السوط الداخلى خلوية (الاماستيجوت) لدى 93 حالة اي بنسبة 63.69% (شكل 4) ولدى اجراء استنبتات رشافة من حافة الآفة على الوسط الزرعى NNN لجميع الحالات ايجابية الفحص المجهرى المباشر وسليبيته زاد عدد الحالات الايجابية من 93 حالة الى 122 حالة اي بنسبة 83.56% ونشير هنا ان نمو الطفيلي (البروماستيجوت) قد ظهر في الوسط الزرعى بعد حوالي 7 ايام من تتميتها في درجة الحرارة 26م (شكل 5) . لوحظ في الدراسة الحالية ان 122 حالة 83.56% كانت ايجابية في الفحص المجهرى المباشر او في الاستنبتات على الوسط الزرعى . وقد توافقت هذه النتيجة مع العديد من نتائج الدراسات التي اعتمدت في تشخيصها على هذه الطرائق ، حيث لوحظ ان تطبيق هاتين الطريقتين معا يزيد من مصداقية الإصابة بداء الليشمانيا الجلدي [19,6] لذلك ولتفريق الإصابة بداء الليشمانيا الجلدي عن أمراض جلدية اخرى تشبه سريريا هذا الداء لتمييزها بظهور آفات جلدية مزمنة غير مؤلمة (20) ، كان لا بد من تطبيق طرائق تشخيصية أخرى تعتمد على كشف الاضداد النوعية الخاصة بالليشمانيا الجلدية تتجلى بظهور الأجسام الضدية المفززة ( Th2 / خلطية ) في مصولهم بتطبيق إختبارات مناعية مثل التآلق المناعي الاليزا . أما باقي الحالات المدروسة والتي يبلغ عددها 20 حالة وبنسبة 13.69% فبقيت سلبية في كل من الفحص المجهرى المباشر والزرع جدول(8) . فقمنا بتطبيق بعض الاختبارات المصلية مثل اختبار المقايسة المناعية الانزيمية ELISA على جميع العينات المصلية المأخوذة من الحالات المدروسة 146 مصلا باستخدام كاشف اعداد الليشمانية الجلدية وعلى 20 عينة شاهدة (سيطرة) . وقد اعتمدت قيمة شدة الامتصاصية الضوئية OD=0.2 كحد فاصل Cut off بين ايجابية العينة وسليبيتها بناء على الكاشف المستخدم ،في جميع القيم الاقل من 0.2 هي عينات سلبية في حين القيم الاعلى من 0.2 عينات ايجابية (شكل 6) .

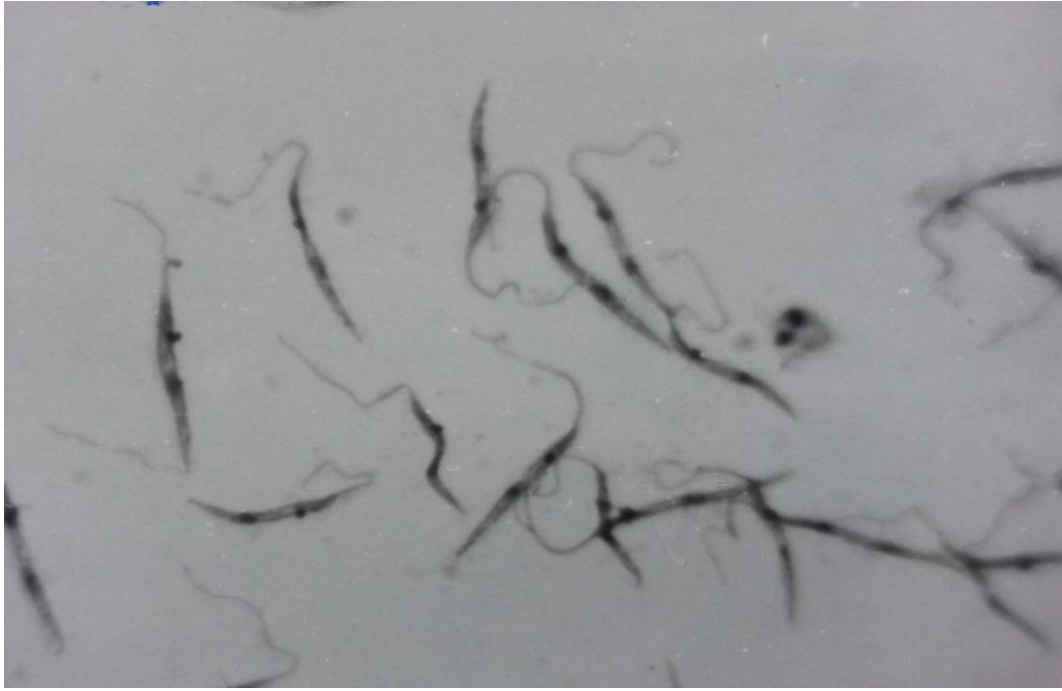
جدول(8): يبين النسب المئوية لإيجابية الفحص المباشر والاستتبات على الوسط الزرعي.

النسبة المئوية	عدد العينات	الاستتبات على NNN	الفحص المباشر
60.95	89	+	+
22.60	33	+	-
2.5	4	-	+
13.69	20	-	-



شكل(4): صورة فوتوغرافية بالمجهر الضوئي تبين لطاخة من الآفة من المصابين بحبة بغداد في قضاء الحويجة وتبدو

الاماستيجوت واضحة وقد صبغت بصبغة الكميذا. ( قوة التكبير 100 X )



**شكل(5):** صورة فوتوغرافية بالمجهر الضوئي تبين بروماستيجوت طفيلي الليشمانية النامية في الوسط الزرع ثنائي

**الطور . (قوة التكبير X 100)**

وبناء على ذلك حصلنا على 138 عينة مصل إيجابية تحوي أجساما ضدية نوعية ضد الليشمانية الجلدية ، اي بزيادة 16 حالة عن عدد الحالات الإيجابية التي حصلنا عليها بالطرائق التقليدية أما باقي العينات المصلية والتي بلغ عددها 8 فبقيت سلبية ، ويوضح الجدول(9) ان فروق النسبة كانت كبيرة بين اختبار الاليزا والاستنابات والفحص المجهرى حيث هذه الفروق معنوية عند مستوى احتمال 0.01 . بينما كانت نتيجة هذا الاختبار المطبق على جميع المصول الشاهدة (سيطرة) سلبية 100% مما يشير الى درجة حساسية ونوعية هذا الاختبار بإستخدام كاشف الليشمانية الجلدية كانت مرتفعة ووصلت الى 94.5% و 100% على الترتيب.

ان ملاحظة الاضداد في 16 حالة في مصول المرضى الذين كانت لديهم نتيجة الفحص المجهرى المباشر والاستنابات سلبية مما يشير الى حساسية تطبيق تقانة الاليزا . وقد توافقت نتائجنا مع دراسة [21] لدى تطبيق تقانة الاليزا على 100 حالة مصابة بداء الليشمانيا الجلدي في الاردن ودراسة [22] على 118 مصابا بهذا الداء في تركيا حيث اكدت هذه الدراسات ان عدد الآفات الجلدية لدى المصاب يؤدي دورا في كمية الاضداد النوعية المتشكلة لليشمانا الجلدية في حين لم يلاحظ لعمر الآفة ارتباط بكمية الاضداد . وفقا لما تقدم عرض في هذه الدراسة ، يمكننا اقتراح تطبيق تقانة

الايضا للكشف عن الاضداد النوعية الموجهة ضد طفيليات الليشمانية الجلدية في مصول المصابين او المشوك بإصابتهم بهذا الداء الى جانب الطرائق التقليدية المتبعة (خاصة عند سلبية نتائج هذه الطرائق) نظرا لما تتمتع به من درجة حساسية ونوعية مرتفعتين نسبيا.

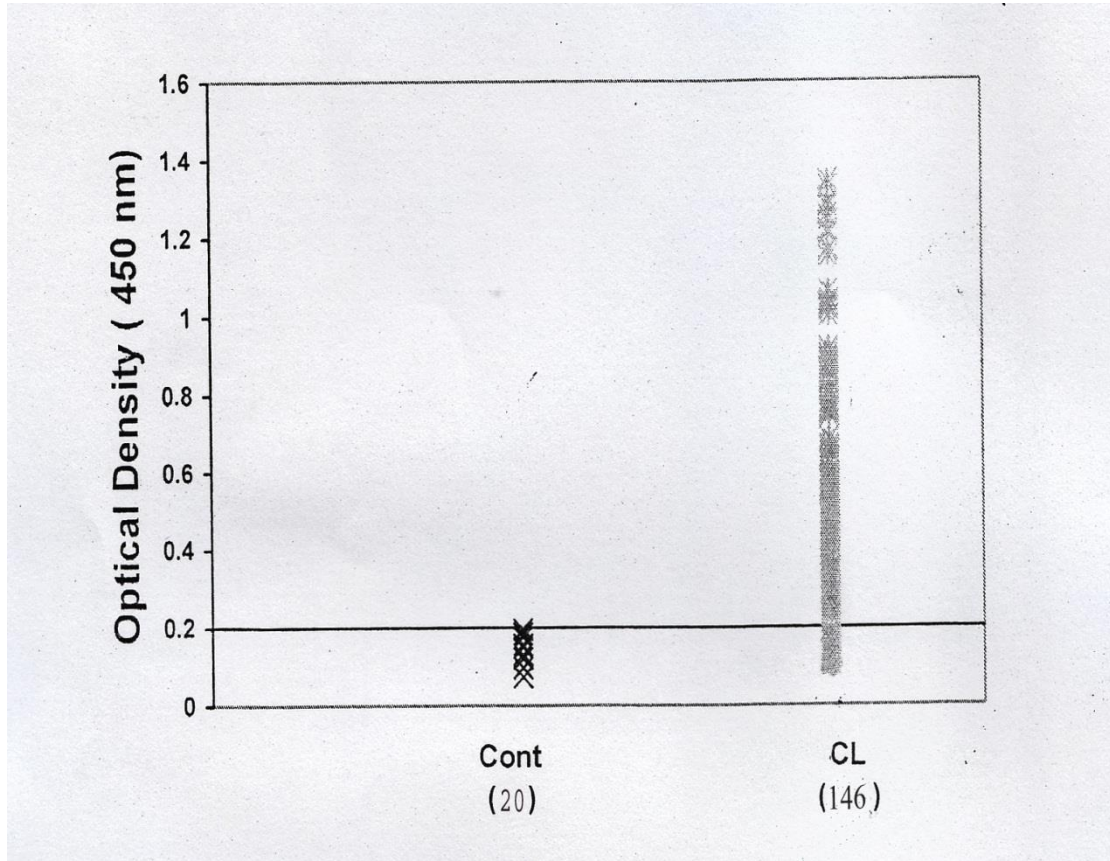
**جدول(9):** يبين فروق النسبة المئوية بين الاختبارات الثلاثة المطبقة.

نوع الاختبار	عدد الحالات	% الإيجابية
الفحص المجهرى	93	63.6
الاستنابات	122	83.5
الاختبار المصلي	138	94.5

فروق النسبة المئوية		
(الفحص المجهرى+الاستنابات)	(الفحص المجهرى + الاختبار المصلي)	(الاستنابات + الاختبار المصلي)
%	%	%
19.86**	30.82**	10.95**

\*\*تشير الى الفروق المعنوية عند مستوى احتمال 0.01 .



**شكل (6):** يبين تفاعل مستضدات الليشمانية الجلدية مع 146 عينة مدروسة (CL) و 20 عينة شاهد (Cont) الخط الأفقي يشير الى نقطة الفصل بين الايجابية والسلبية Cut Off = 0.2 nm .

كما تم اجراء فحص الاليزا ELISA حسب الفئات العمرية وأظهرت النتائج تشخيص 138 حالة إيجابية من مجموع العينات المفحوصة 146 عينة وبنسبة 83.1% وسُجلت فروق معنوية عند مستوى احتمال أقل من  $P < 0.01$  في تكرار الحالات الإيجابية باستخدام الفحص بين الفئات العمرية المختلفة ، حيث كانت اعلاها في الفئة العمرية دون السنة بنسبة 100% تلاها الفئة العمرية 5-10 سنوات بنسبة 97.9% ثم الفئة العمرية 1-5 سنوات وبنسبة 95.8% واقلها في الفئة العمرية 20-25 سنة وبنسبة 66.6% مقارنة مع مجموعة السيطرة 0.0% جدول (10) .

جدول(10): عدد الحالات المشكوك بإصابتهم بالليشمانية الجلدية والحالات الايجابية بطريقة اختبار المقايسة المناعية

الانزيمية ELISA

المرحلة العمرية	عدد الحالات المشكوك بها	عدد الحالات الإيجابية	% الإيجابية
مجموعة السيطرة	20	0	0.0
دون السنة	7	7	100
1-5 سنة	73	70	95.8
5-10 سنة	36	35	97.2
10-15 سنة	15	14	93.3
15-20 سنة	7	6	85.7
20-25 سنة	3	2	66.6
25-30 سنة	5	4	80
المجموع	166	138	83.1

وعند دراسة العلاقة بين عمر الآفة وقيم الشدة الامتصاصية OD لأضداد داء الليشمانيا الجلدي ، تم توزيع الحالات الايجابية على مجموعتين حيث تضم المجموعة الاولى 121 حالة تراوح عمر الآفة من 1-6 أشهر وبينما تضم المجموعة الثانية 17 حالة تراوح عمر الآفة فيها الى اكثر من ستة أشهر وقد تم تسجيل جدول(11) .

1- قيم شدة امتصاصية ضوئية  $0.2 - 0.5 \text{ nm}$  OD = > 0.2 بنسبة 59.5% في المجموعة الاولى وبنسبة 64.7% في المجموعة الثانية.

2- قيم شدة امتصاصية ضوئية  $0.5 - 1 \text{ nm}$  OD = > 0.5 بنسبة 40.4% في المجموعة الاولى وبنسبة 35.2% في المجموعة الثانية.

جدول(11): العلاقة بين نسبة الاضداد النوعية لليشمانية الجلدية المقاسة بالاليزا ELISA وعمر الآفة.

اختبار الاليزا				عدد الحالات الإيجابية	عمر الآفة
النسبة المئوية	OD>0.5-1 nm	النسبة المئوية	OD>0.2-0.5 nm		
40.4	49	59.5	72	121	من 1-6 أشهر
35.2	6	64.7	11	17	أكثر من 6 أشهر

وكذلك عند دراسة العلاقة بين عدد الآفات وقيم الشدة الامتصاصية لأضداد داء الليشمانيا الجلدي تم توزيع الحالات

الإيجابية على مجموعتين :-

المجموعة الاولى (99 حالة) تراوح عدد الآفات فيها من 1-3 آفة.

اما المجموعة الثانية (39 حالة) فكان عدد الآفات فيها أكثر من 4 آفات وقد تم تسجيل جدول(12).

1- قيم شدة امتصاصية ضوئية OD=>0.2-0.5 nm بنسبة 76.7% في المجموعة الاولى وبنسبة 20.5% في المجموعة الثانية.

2- قيم شدة امتصاصية ضوئية OD>0.5-1 nm بنسبة 24.2% في المجموعة الاولى وبنسبة 76.9% في المجموعة الثانية.



جدول(12): العلاقة بين نسبة الاضداد النوعية لليشمانيا الجلدية المقاسة بالاليزا ELISA وعدد الآفات الجلدية.

النسبة المئوية	OD>0.5-1 nm	النسبة المئوية	OD=>0.2-0.5 nm	عدد الحالات	عدد الآفات
24.2	24	76.7	76	99	من 1-3 آفة
76.9	30	20.5	8	39	أكثر من 4 آفات

ومن خلال الدراسة الاحصائية لدرجة الارتباط ، تبين عدم وجود أي ارتباط معنوي بين عمر الآفة واختبار الاليزا في حين سجل ارتباط ايجابي قوي ومعنوي عند مستوى احتمال 1% بين عدد الآفات الجلدية واختبار الاليزا جدول(13).

جدول(13): يبين درجة الارتباط بين الاختبار المصلي وعمر الآفة وعددها .

OD	عدد الآفات	
0.101	0.052	عمر الآفة
0.086	0.228	معامل الارتباط P.value
0.791 **	—	عدد الآفات
0.000		معامل الارتباط P.value

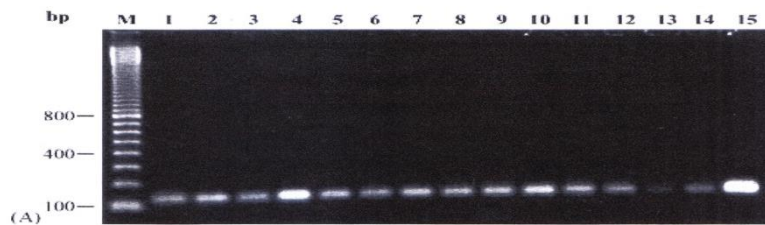
\*\*يشير الى ارتباط معنوي عند مستوى احتمال 0.01



تقنية سلسلة تفاعل البلمرة PCR:

تم استخلاص الحامض النووي الذي اوكسي رايبوزي DNA من العينات السريرية والعزلات المعزولة شكل (7) حيث تراوحت كمية ال DNA بين (12-34) نانوغرام لكل مايكروليتر وبنقاوة عالية تراوحت بين (1.83-1.85) . وعند استخدام تقنية سلسلة تفاعل البلمرة في مضاعفة منطقة محددة ضمن الحامض النووي الذي اوكسي رايبوزي للطفيلي باستخدام بادئات خاصة مصممة للجين المشفر لل DNA المسمى KDNA الخاص بعترات الليشمانية ، تم تمرير نواتج ال DNA المضخم في جهاز الترحيل الكهربائي لل DNA حيث ان النتيجة اظهرت بأن الطفيلي نوع *Leishmania major* هو النوع الوحيد الذي تم التحري عنه وكان الحجم الجزيئي ل DNA الليشمانية بحدود 740 كيلو زوج قاعدي مقارنة مع الدليل الحجمي القياسي Lader DNA كما موضح في شكل (8).

ان استخدام تقنية PCR اعتمادا على التضاعف الانزيمي للكشف عن الحامض النووي الذي اوكسي رايبوزي الكينيبتوبلاستيدي kDNA للطفيلي الليشمانية في مختلف العينات السريرية وان ملاحظة ظهور حزمة واحدة وبحجم جزيئي تقريبا 740 كيلو زوج قاعدي مما يمثل مؤشرا وراثيا بأن الطفيلي المسبب لداء الليشمانيا الجلدية هو نوع *Leishmania major* الذي تم التحري عنه . وتتفق هذه النتيجة مع نتائج دراسات سابقة حول تشخيص الليشمانيا الجلدية [6,3] وتؤكد ان تقنية PCR هي طريقة حساسية وبديلة عن الفحص التقليدي في التحري والتشخيص والتفريق بين انواع طفيلي الليشمانية . وكما ان ظهور الآفة بدون تقرح في منطقة الإصابة لحيوان الهامستر ما هو إلا دليل على ان الطفيلي المسبب لداء الليشمانيا الجلدي هو من النوع الريفي / (ليشمانية ميجر) والذي يمتاز بشدة مرضية عالية.

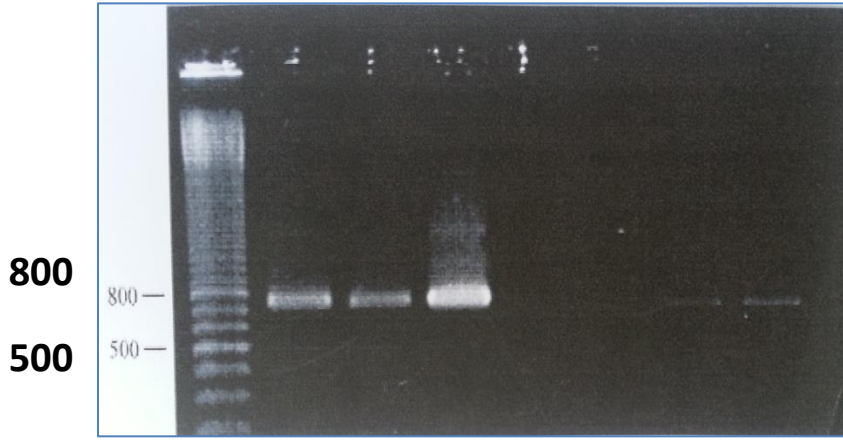


شكل (7): الهجرة الكهربائية بالجل آكاروس (Gel – agarose electrophoresis) للحامض النووي الذي اوكسي

رايبوزي DNA المنقى من العينات السريرية (الخط 1 – 12) وعزلات الطفيلي المعزولة من الآفات (الخط 13 – 14)

وطفيلي ليشمانية ميجر (الخط 15) .

bp M 1 2 3 4 5 6 7



شكل(8): تفاعل تقنية سلسلة تفاعل الانزيم المتبلمر PCR في تشخيص طفيلي الليشمانيا في عينات الآفات المأخوذة من المصابين بداء الليشمانيا الجلدية وفي خلاصة عزلات الطفيلي المعزولة من الآفات .

الخط M علامة (1000 bp) DNA Lader

الخط 1-2 تضخيم جين ناتج PCR في عينات الآفات .

الخط 3 *Leishmania major*

الخط 4-5 شاهد سلبي Negative control

الخط 6-7 تضخيم جين ناتج PCR في عزلات الطفيلي المعزولة من الآفات.

## المصادر (References)

[1] A. Banuls ., M.Hide, and F. Prugnonle .(2007) . Leishmania and the Leishmaniasis . Adv. Parasitol., 64, 1–70.

[2] J.Patel., and K.Shah.(2008). Leishmaniasis , Pharma., 2, 1–11.

[3] A.Qader., M. Abood and T .Bakir. (2009a). Identification of leishmania parasites in clinical samples obtained from cutaneous leishmaniasis patients using PCR technique in Iraq. Iraqi J,Sci., 50, 32–36.

[4] كاظم جابر عودة ،(2012) . دراسة وبائية تشخيصية لداء الليشمانيا مع تحديد أنماط الطفيل المسبب بواسطة تقنية PCR وتمييز الأنواع الناقلة من ذبابة الرمل في محافظة ديالى أطروحة دكتوراه ، جامعة تكريت.

[5] I.,AL–Aubaidi ., F.Mhaisen , and NAL–Basher.(2012). Isolation and characterization of Iraqi leishmanial isolates. Ist. Sci.con. Coll. Edu.Pure Sciences , Baghdad university.

[6] تركان قاسم نوري ، قار ياغدي (2012) . دراسة كفاءة بعض الطرق المخبرية المستخدمة في تشخيص الاوالي الممرضة بين المصابين في مدينة كركوك ، رسالة ماجستير، كلية العلوم ، جامعة كركوك.

[7] M.,Shaaban, L.Hammoud, and S.Nahhas. (2003). Epidemiological of cutaneous Leishmaniasis of cases from dermatology hospital and general clinic in Damascus . Dams. Univ. J. Bass. Sci., 20, 49–61.

[8] J.,Sambrook , E.FFritsh , and T.Maniatis. (1989) Molecular cloning. Laboratory Manual , 2<sup>nd</sup> ED. Cold spring Harbor laboratory press .U.S.A.

[9] عبد الكريم يونس ، العيدان (2001).الحمى السوداء في ناحية الفهود - محافظة ذي قار ، رسالة ماجستير ، جامعة ذي قار.

[10] هادي مدلول، الميالي (2004) . تقويم و استخدام بعض الفحوصات المناعية في دراسة داء الليشمانيا في محافظة القادسية ، اطروحة دكتوراه ، كلية التربية ، جامعة ،القادسية

- [11] عباس حياوي ،كشكول (2009). *بعض الجوانب البيئية والحياتية للحرمسالواخر : Diptera Psychodidaephlebo to minae* ووبائية داء الليشمانيا الجلدية في محافظة الديوانية رسالة ماجستير ، جامعة ديوانية.
- [12] James, Chin . (2000) . *Control of communicable disease manual Washington American Public Health Association* 7<sup>th</sup>. 284–289.
- [13] لازم حميد كايد ، الطائي (2002). *دراسة تأثير بعض المساعدات الحيوية على الاستجابة ضد الاصابة طفيلي الليشمانية الحشوية في الفئران المختبرية* . أطروحة دكتوراه ، كلية الطب ، جامعة بغداد.
- [14] F. Sukkar. (1976). *Some epidemiological and clinical aspect of kala-azar in Iraq*. Bull. End. Dis. Baghdad, 17, 53–6
- [15] T. I.;AL-Alousi, B. M. A.Latif, and AL-Shanawi, F.A. (1980). Detection of antibodies to leishmaniasis in dried on filter paper by the indirect fluorescent antibody test. Ann. Trop. Mid. Parasitol.; 74(5):503–506.
- [16] سعدون فلحي ،العلاق (1996) . *دراسة في وبائية مرضى الحمى السوداء الكلاآزار في محافظة ميسان / قضاء المجر* . رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد
- [17] زينب عبد علي ، محمد (2007). *دراسة تشخيصية لداء الليشمانيا الاحشائية باستعمال تقنية PCR في محافظة ذي قار* . رسالة ماجستير . كلية التربية . جامعة ذي قار.
- [18] A .Anonymous .(2000). *The leishmaniaasis and leishmania*. WHO, sheet no. 116, Geneva.
- [19] A.,Ataya., and N .Sarji. (2001) *A comparative study of methods used for diagnosis of leishmaniasis in Syria* J. of the arab board of medical specialization . 3(4) :108.
- [20] J.Nelson. (2005) Text Book of pediatrics.Elsiever Pub. Ltd., New York,PP.257–499.
- [21] I.M.Mosleh, E.K.Saliba, S.AL-Khateeb, Z.Bisharat, OY.Oumeish, and W. Bitar

(1995) Serodiagnosis of cutaneouleishmaniasis in Jordan using indi Using indirect fluorescent antybody test and theenzymelinked immunosorbent assay . Actatropica 59: 163-172.

[22] H.Ozbilge, I.H.Ozerol, M.Ulukanligil, and A.Seyrek. (2001). The correlation between the stage of cutaneous leishmaniasis and diagnostic methods Turkish society of parasitology and University of Crete World Leish .2. Hellenic. Pasteur institute .

#### المؤلف

حسين فاضل حسن: بكالوريوس علوم الحياة ، 1976 ، جامعة الموصل.  
ماجستير طفيليات ، 1979 ، جامعة الموصل دكتوراه كيمياء حياتية في الأوالي الطفيلية ،  
1987 ، جامعة كلاسكو، اسكتلندا ، بريطانيا . تدريسي في قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ،  
جامعة كركوك .

