

مسح وبائي لداء الليشمانيا الجلدية في محافظة ديالى
 جابر عودة كاظم ا.د.توفيق ابراهيم محمد الالوسي ا.م.د.عبد الله حسين عبد الله الجبوري .

مسح وبائي لداء الليشمانيا الجلدية في محافظة ديالى

جابر عودة كاظم / المعهد التقني بعقوبة ا.د.توفيق ابراهيم محمد الالوسي
 ا.م.د.عبد الله حسين عبد الله الجبوري .
 جامعة تكريت / كلية التربية / قسم علوم الحياة

الخلاصة

شملت الدراسة تشخيص وتسجيل 394 اصابة بالليشمانيا الجلدية في بعض أفضية ونواحي محافظة ديالى وهي (جلولاء ، بني سعد ، بلدروز ، بعقوبة ، ناحيتي العظيم ودلي عباس) وللمدة من 4 نيسان 2010 ولغاية 30 آذار 2011. وبينت النتائج ان ذروة الاصابة كانت خلال شهر كانون الثاني اذ كان العدد 68 وبنسبة %27.40، واقلها في تموز واب . وفي كافة الاقضية المحافظة وكانت تركز الاصابات في جلولاء اذ بلغ عدد المصابين 105 وبنسبة %26.6 و اقل عدد في بعقوبة اذ بلغ 35 و بنسبة %3.8، وكانت اعلى نسبة للاصابة بالنسبة للعمر اذ بلغت بالاطفال الذين كان عدد المصابين 110 حالة و نسبتهم %27.9. ظهرت بين الاطفال من شهر واحد الى 5 سنوات من العمر في حين كانت نسب الاصابة منخفض مع تقدم العمر الذين كان عددهم 10 وبنسبة %2.5 لدى الفئة العمرية 50-60 سنة . وشكلت القرحة الواحدة 178 وبنسبة %45.1 وبنسب اقل للقرح المتعددة (3-5) التي كان عددها 119 وبنسبة %30.2. وشملت الاصابات اجزاء الجسم كافة مع تركزها على منطقة الوجه فقد كانت قرح الوجه 143 و بنسبة %36.5 واقلها في راحة اليد وباطن القدم 10 وبنسبة %2.5. مع سيادة القرح الجافة على الرطبة . شكلت الاصابات المفردة التي شملت فرداً واحداً في العائلة اعلى من القرح المتعددة (68.38%) (3.5%) على التوالي . بنسبة اقل لاصابات التي شملت اكثر من فرد ضمن العائلة الواحدة ، وكانت اغلب حالات تعدد الاصابات المسجلة ضمن العائلة الواحدة حدثت في عوائل قروية والتي شكلت نسبة %78.16 مقابل %12.84 من عوائل حضرية . كما كان لموقع المنزل دور كبير في انتشار الاصابة بالليشمانيا الجلدية. اذ بلغ عدد المصابين الذين يقطنون تنازل تربي بداخلها الحيوانات 245 حالة موجبة وبنسبة %40.3.

الكلمات الدالة : الليشمانيا الجلدية ، بروتين ، حديد

Epidemiological to savory cutaneous Leishmaniasis In Diyala Governorate

M.Dr Jabir Aodah Kadhim

Baquba Technical institute / Community health department

Prof . Dr. Tawfeq Ebraheem Mohammed Al-Alocy

Veterinary college / Tikrit University

Assit.Prof Abdullia Hussein Abdulia Al-jubory

Education college / Tikrit University

Received 14 March 2012 ; Accepted 13 May 2012

Abstract

In this study 394 cases of cutaneous Leishmaniasis distributed among the districts in clouding Jalawla , Banisaad , Baladroz , Baquba , Alodeim and Deliabass . Fron 4th April /2010 to 30March-2011.The results shows that the infection get to result high percentage of infection in December as if the number 68 cases and percentage 27.40% at pre all of different sub-districts in Diyala the way as through signatory houses large stage in infective of cutaneous Leishmaniasis if get to infected number , they are breeding the animals in their houses . The number of cases reached 245 cases and the percentage 40.3%.

Keyword :- cutaneous leishmaninsis , protein , Iron

المقدمة

تعد الليشمانيا الجلدية Cutaneous Leishmaniasis احد الامراض الطفيلية الانتقالية واسعة الانتشار في العالم وخاصة في البلدان الاستوائية وشبه الاستوائية. وهو من الامراض المتوطنة في العراق فقد وردت اول اشارة للمرض في كتابات الرازي قبل اكثر من 500 سنة، وقد عرف المرض بتسميات مختلفة اعتمادا المناطق والمدن التي تحصل فيها الاصابة ، مثل حبة حلب وحبة بغداد وحبة دلهي(1) ان المسبب لمرض داء الليشمانيا الجلدية هو طفيلي *Leishmania tropica* ، *Leishmania major* وهي طفيليات وحيدة الخلية من الاوالي تعيش داخل الخلايا اجبارياً وتستعمل خلايا الجهاز الشبكي الطلائي والخلايا احادية النواة Monocyte والخلايا اللمفية Iymphocytes في الجلد وتنتقل هذه المسببات المرضية بواسطة لسعات اناث ذبابة الرمل Sand fly العائدة الى جنس *Phlebotomus spp* في بلدان امريكا الجنوبية وفي افريقيا واسيا واجزاء من اوربا (2) يصعب تحديد عدد حالات الاصابة في الليشمانيا الجلدية وذلك لعدم مراجعة اغلب المصابين الى المستشفيات نتيجة لشفاؤها الذاتي بعد شهرين او ستة اشهر وتترك مناعة دائمية ضد تكرار الاصابة تبدأ الاصابة بالمرض على شكل حطاطه صغيرة حمرة في موقع لدغة ذبابة الرمل ، تتكون عليها قشرة تدريجياً ثم تتقرح وتكبر في الحجم وقد تكون الافة مفردة أو متعددة كما تختلف حبة بغداد حسب التوزيع الجغرافي للمرض .

اهداف الدراسة:-

- 1- تكوين صورة جديدة عن وبائية طفيلي الليشمانيا الجلدية في محافظة ديالى .
- 2- دراسة بعض الجوانب المناعية المرافقة للاصابة بالطفيلي .

المواد وطرق العمل

تم أخذ 394 عينة الدم من حافة القرحة من الاشخاص المصابين بداء الليشمانيا الجلدية والمشخصين سريرياً من قبل اخصائي امراض الجلدية من مناطق الدراسة المختلفة في محافظة ديالى. للفترة 4 نيسان 2010 ولغاية 30 اذار 2011 اذ حفظت في انابيب مانعة التخثر وحفظت في درجة حرارة 4C لحين الاستعمال ، كما نظمت استمارة خاصة لكل عينة تضمنت رقم النموذج تاريخ الجمع ومكان والسكن والجنس استناداً الى طريقة (3) .

1- تشخيص الطفيلي وتثبيته :-

تم اجراء عدة فحوصات للكشف عن طفيليات الليشمانيا الجلدية *L.tropica L.major* ومن ثم تثبتها وتصيغها كما يأتي :-

فحص مسحات الافرازات استخدمت طريقة (4) بعد عمل مسحات تركت لتجف في الهواء ثم ثبتت بغمرها في الكحول المثلي المطلق لمدة دقيقة واحدة . تركت الشريحة للتخلص من الميثانول الزائد ، صبغت بصبغة زيل لنسن لمدة ساعة واحدة . ثم غسلت بماء الحنفية الجاري لمدة عشرة دقائق ، تركت لتجف في الهواء . ثم وضع غطاء الشريحة عليها وفحصت بالمجهر بقوة تكبيرية x 40 مرة و ثم x 100 مرة .

2- جمع سائل قرحة وفقاً بطريقة (5) ثم حقن في الأوساط الزرعية شبه الصلبة semi-solid medium والمحضر وفق طريقة (6) والذي يستخدم لعزل الاوالي من الطفيليات في ظروف معقمة . ثم تم حضن الأوساط الزرعية بدرجة حرارة 25 – 27 0م ولمدة 72 ساعة تم فحصها بعد التأكد من عدم تلوثها ثم يعاد فحصها مرة أخرى في اليوم الرابع والسابع عن طريق أخذ قطرة من السائل المزروع ووضعها على شريحة زجاجية نظيفة . ثم غطيت بغطاء الشريحة وفحصت على قوة x 40 للكشف عن الطفيلي ومن ثم ينقل نموذج من الوسط بواسطة اللوب إلى الوسط السائل الحاوي على الطور امامي السوط الى الوسط الزراعي الثنائي الطور .

النتائج والمناقشة

أظهرت الدراسة نسب عالية للإصابة بالليشمانيا الجلدية في المناطق جولاء وبني سعد وبلدروز وبعقوبة وناحيتي العظيم ودلي عباس فقد بلغت أعلى نسبة بالإصابة في قضائي جولاء وبني سعد 105، 93 فقد بلغت نسبها 26.6% و 23.6% على التوالي اما بقية الاقضية والنواحي وهي بلدروز وبعقوبة وناحيتي العظيم ودلي عباس 90، 35، 71 وقد بلغت نسبهما 22.8% و 3.8% و 8.8% على التوالي من نسب الإصابات المسجلة في جدول رقم (1). (6)(7) ولعل السبب يعود الى ان قضائي جولاء وبني سعد تعد بيئة مثالية لحشرة ذبابة الرمل ولكونهما مناطق موبوءة بإصابات الليشمانيا الجلدية ، فضلاً عن ذلك تعد مناطق ريفية اذ يقومون بتربية الحيوانات (الماشية) داخل المنازل السكنية وكذلك إهمال مكافحة الحيوانات كالكلاب السائبة والقوارض. وكما يبين الجدول رقم (2) ظهور الإصابات وانتشارها حسب أشهر السنة فقد شهد شهر كانون الثاني للعام 2011 اذ بلغت 68 وبنسبة % 17.2 لدراسة الحالية أعلى نسبة للإصابة اذ بلغت 68

وبنسبة % 17.2 مقارنة ببقية أشهر السنة الأخرى ،بينما كانت عدد الاصابات في شهري تموز وأب اصابة واحدة وكانت بنسبة % 0.3 وهذا يتفق مع (5)(8)(9)(16) والسبب يعود إلى ارتفاع درجة الحرارة في هذه الأشهر والتي لها دور كبير في التأثير على الحرms الناقل لطفيليات الليشمانيا، ولقلة تواجد القوارض التي تعتبر مضيفاً خازناً للطفيلي وهذا يتفق مع ما توصل إليه الباحث (1)(2)(3).

يبين جدول رقم (3) توزيع الإصابات بحسب الفئات العمرية في محافظة ديالى. فكانت اعلي نسبة إصابة هي ضمن الفئة العمرية من شهر إلى خمس سنوات حيث بلغت % 27.9 بينما كانت اقل نسبة إصابة هي في الفئة العمرية من 50 – 60 سنة % 2.5 والسبب يعود لذلك إلى أن حركة الأطفال تكون أكثر من حركة الكبار مما يتعرضون الى لسعات الحرms الناقل للطفيلي والنوم خارج المنزل وخاصة في الأشهر المعتدلة ونتيجة للتعرض الاشخاص كبار السن الى جرعات واطئة من الطفيليات المنقولة بواسطة ذبابة الرمل وغيرها من الحشرات ذات الفم الثاقب الماص والتي تستوطن مناطق عديدة من محافظة ديالى وهذا يتفق مع ما نتج عن دراسة (3) وكذلك (8)(10)(11).

اما الجدول رقم (4) فقد يبين اعداد القرص ونسبها المئوية خلال فترة الدراسة وكانت اعلي نسبة اصابة بقرحة المنفردة الذي كان عددها 178 فقد بلغت نسبتها % 45.1 بينما كانت اقلها هي القرص المتعددة والتي يبلغ عددها (3- 5) فما فوق

فقد بلغت عددها 119 ونسبتها 30.2% والسبب هذا يعود الى ان تطور في سلالات جديدة للطفيلي في محافظة ديالى وهذا يتفق مع كثير من الباحثين العراقيين منهم (12) ، (17).

كما سجلت الدراسة اعداد القرحة الجافة و الرطبة. كما في الجدول رقم (5) أظهرت النتائج ان عدد القرحة الجافة هي 257 وبنسبة 62.2% بينما كان عدد القرحة الرطبة 137 وبنسبة 34.8%. وان احتمال انتشار الاصابة بالنوع *L.tropica* على *L.major* وهذا يعود الى العامل المناخي لمناطق الدراسة بالإضافة الى ذلك هو التغير في طبيعة التفاعل بين الطفيلي والمضيف وهذا يتفق مع ما توصل اليه (1) (6)(14)(17) .

اما الجدول رقم (6) الذي يبين اعداد القرحة الجلدية على اجزاء الجسم المختلفة ونسبها المئوية وكانت الاصابة تركزت على الوجه وعددها 143 قرحة وكانت بنسبة 36.5% واقلها على راحة اليد وباطن القدم التيكان عددها 10 بنسبة 2.4% ان القيمة الاحتمالية للاختبار والبالغة (0.000) اقل من المعنوية (0.05) ، (0.01) والسبب يعود الى ان الوجه والاطراف العليا قد تكون مكشوفة اكثر من باقي مناطق الجسم وتكون معرضة اكثر للسع ذبابة الرمل من باقي اجزاء الجسم الاخرى .

جدول رقم (7) يبين توزيع القرحة حسب مواقعها واعدادها بين المصابين في الاطفال والبالغين ونسبها المئوية اذ بلغت نسبة الاصابة في الاطفال 79.1% بينما في البالغين بلغت نسبة الاصابة 20.9% وكانت أغلب مناطق الاصابة في الاطفال كانت على الوجه 98 وقد بلغت نسبتها 31.4% بينما بلغت في الكبار عددها 35 وبنسبة 41.1% وأدنى نسبة للاصابة كانت في راحة اليد وباطن القدم وقد بلغت 7 ونسبة 2.5% في الاطفال بينما في الكبار لا توجد والسبب يعود الى ان راحة اليد وباطن القدم في الاطفال تكون رقيقة وتسهل على الحشرة على غرز فمها الثاقب الماص بينما في الكبار تكون خشنة ومتصلبة يصعب على الحشرة اختراق فمها الثاقب الماص فيها .

جدول رقم (8) يبين اعداد الاصابات الجلدية الاخرى المسجلة ضمن الاصابات الجلدية بشكل عام . فقد بلغ عدد الاصابات الجلدية غير المرافقة لحبة بغداد 346 وبنسبة 87% بينما بلغت الاصابات الجلدية المرافقة لحبة بغداد 48 وبنسبة 12.2% . كما يبين جدول (9) توزيع الاصابات المسجلة حسب التوزيع المكاني للمنازل اذ بلغ عدد الاصابات الريفية 333 وبنسبة 84.5% وكانت عدد الاصابات المدنية 61 وبنسبة 15.5% . وهذا يوضح انتشار القرحة الجافة اكثر من الرطبة وذلك لتوفر الظروف البيئية للحشرة الناقلة و هذا يتفق مع ما توصل له الباحث (3) .

جدول (1) توزيع الاصابات الجلدية على افضية وقصبات وقرى محافظة ديالى وونسبها المئوية خلال فترة الدراسة

الاصابات الجلدية	النسبة المئوية	اماكن الدراسة
105	26.6%	جلولاء
90	22.8%	بلدروز
93	23.6%	بني سعد
35	3.8%	بعقوبة
71	8.8%	ناحيته العظيم ودلي عباس واطرافها
394	85%	مجموع

مسح وبائي لداء الليشمانيا الجلدية في محافظة ديالى
 جابر عودة كاظم ا.د.توفيق ابراهيم محمد الالوسي ا.م.د.عبد الله حسين عبد الله الجبوري .

جدول رقم (2) يبين اعداد ونسب الاصابة Leishmaniasis خلال اشهر السنة الدراسية لبعض للاقضية في محافظة ديالى .

نسبة الاصابة	عدد الاصابات	Month	
7.3%	29	April 2010	1
3.8%	15	May 2010	2
0.5%	2	June 2010	3
0.3%	1	July 2010	4
0.3%	1	August 2010	5
5.3%	21	Septembers 2010	6
12.1%	48	October 2010	7
17.5%	59	November 2010	8
13.7%	51	December 2010	9
16.5%	68	January 2011	10
12.1%	48	February 2011	11
12.9%	51	March 2011	12
100%	394	الكلي	

جدول (3) توزيع الاصابات بالليشمانيا الجلدية حسب الفئات العمرية في محافظة ديالى لفترة الدراسة من نيسان 2010- آذار 2011

النسبة المئوية	الفئات العمرية (سنة)	عدد الاصابات
%27.9	شهر الاول - 5 سنوات	110
%13.1	5- 10 سنوات	52
%10.6	10- 15 سنة	42
%10.6	15- 20 سنة	42
%17.2	20- 30 سنة	68
%5.2	30- 40 سنة	20

مسح وبائي لداء الليشمانيا الجلدية في محافظة ديالى
 جابر عودة كاظم ا.د.توفيق ابراهيم محمد الالوسي ا.م.د.عبد الله حسين عبد الله الجبوري .

4.3%	50 - 40 سنة	17
2.5%	60 - 50 سنة	10
8.3%	70 - 60 سنة	33
5.4%	Total	394

جدول (4) اعداد القرحة الجلدية ونسبها المنوية بين المصابين خلال فترة الدراسة

النسبة المئوية	عدد الاصابات	اعداد القرحة
45.1%	178	قرحة واحدة
24.6%	97	فرحتان اثنتان
15.9%	63	ثلاث قرح
10.6%	42	اربع قرح
3.5%	14	خمسة قرح
5.4%	394	

جدول (5) اعداد والنسب المنوية لنوع الاصابة بالليشمانيا الجلدية (الجافة والرطبة)

النسبة المئوية	اعدادها	نوع الاصابة
62.2%	257	جافة
34.8%	137	رطبة
100%	394	المجموع

مسح وبائي لداء الليشمانيا الجلدية في محافظة ديالى
 جابر عودة كاظم ا.د.توفيق ابراهيم محمد الالوسي ا.م.د.عبد الله حسين عبد الله الجبوري .

جدول (6) توزيع القرحة الجلدية على اجزاء الجسم المختلفة

النسبة المئوية	اعداد المرضى	موقع القرحة
36.5%	143	الوجه
16.7%	66	الرقبة
23.8%	94	الاطراف العليا
20.5%	81	الاطراف السفلى
2.5%	10	باطن اليد والقدم
5.4%	394	المجموع

جدول (7) مقارنة توزيع القرحة الجلدية حسب مواقعها في الاطفال والبالغين

موقع الإصابة	عدد المرضى الاطفال	النسبة المئوية الاطفال	عدد المرضى البالغين	النسبة المئوية البالغين
الوجه	98	31.4%	35	41.1%
الرقبة	43	13.7%	18	21.9%
الاطراف العليا	34	10.8%	20	24.3%
الاطراف السفلى	30	9.6%	9	10.9%
الظهر	7	2.5%	0	0.0%
المجموع	312	79.1%	82	20.9%

جدول (8) اعداد النسب المئوية لنوع الإصابة بالليشمانيا الجلدية

النسبة المئوية	عدد الاصابات	اصابات جلدية اخرى
87.8%	346	لا توجد اصابات
12.2%	48	توجد اصابات
100%	394	المجموع

مسح وبائي لداء الليشمانيا الجلدية في محافظة ديالى
 جابر عودة كاظم ا.د.توفيق ابراهيم محمد الالوسي ا.م.د.عبد الله حسين عبد الله الجبوري .

جدول (9) توزيع الاصابات المسجلة حسب التوزيع المكاني للمنازل في محافظة ديالى

النسبة المئوية	عدد الاصابات	اصابات جلدية اخرى
%84.5	333	قروية
%15.5	61	حضري
%100	394	المجموع

المصادر العربية

1. ابو الحب جليل (1978) ، الحشرات الطبية والبيطرية في العراق ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي بغداد - العراق .
2. سليط ، علي محمد والصفار ، زهير يونس والعراقي ، رياض احمد (1984) . المرشد الى علم الحشرات الطبية ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة بغداد .
3. القاضي ، بان نوري ، (1995) ، تأثير درجات الحرارة المختلفة على شكلية وخصية اللشمانيا تروبيكا في الهامستر الذهبي ، رسالة ماجستير - جامعة بغداد .

References

4. Abul-Hab, J.K and AL-Azzawi, B.M (1976). Trails to artificially infect *Phlebotomus papatasi*, (Diptera Psychodidae with causative agent of kala-azar 3rd pest control conf., Ain Shams University, Cairo, 2-5: PP. 403-407.
5. Adhya, S; Chatterjee-M; Hassan-MQ; Mukherjee-S; Sen-S (1995). Detection of Leishmania in the blood of early kala-azar patients with the aid of the polymerase chain reaction. Trans-R. Soc.Trop. Med-Hyg. 89(6): 622-4
6. Ali, A. and Ashford, R.W. (1993). Visceral Leishmaniasis. In Ethiopia; 1- Cross sectional *Leishmania skin* test in an endemic locality. Ann. Trop. Med Parasitology, 87(2):157- 161.
7. Barbosa, R.; Guia, .L; Nunes,A.Z.;Costa,K.M.; Gunqueir, R.G.;Mayrink , W.;Genaro, O.and Tavares, C.A. 2002 . *Leishmania magor* like antigen for specific and sensitive cerodignosis of human and canina visceral Leishmaniasis . Clin. Diag.Lap. Immunol. , 9:1361-1366 .

8. Belkaid, Y.;Mendez, S.;Lari,R.;Kadampi,N.; Milon, G. and Sacks , D.(2000) . Anatural model of Leishmania major infection reveals abrolonged "silent" phase of parasite amplification in the skin before the onset of lesion formation and immunity. J.Immunol. , 165:969- 977 .
9. Berman , J.(1996). Treatment of new world cutaneous and mucosal Leishmaniasis . Clin. Dermatol ., 14: 519-521 .
10. Colle,J.; Fraser , A.; Marmion , B. and Simmans , A.(1996) . Mackie Macartney practical medical microbiology 14th . Ed .Churchill living Stone . New York,USA., 978 P.
11. Dercure, J. ; Rioux, J.A.; Khiami, A.; Pralong, F.; Perieres, J. and Martini, A. (1991). Epidemiology of Leishmaniasis in Syria: Presence of *Leishmania infantum* Nicolle and *Leishmania tropica* (wright). Kinetoplasida trypanosomatidae). In dog Annales DE parasitologi Humane ET Comper, 66(6):252-255.
12. Dowlati Y. and Modabber, F. (1996) . Cutaneous Leishmaniasis: Clinical Aspect Clin. Dermatol. Sci. PP: 425-431.
13. Grevelink-SA; Lerner-EA. (1996) .*Leishmaniasis*. J-Am- Acad- Dermatol; 34(2 Pt 1): 257-72
14. Hill, J.O. Pathophysiology of experimental leishmaniasis : the role pf Parasite phyiologs in the development of mestastic disease , journal of trupical medicine and hyagine , 39(3). 1988. pp. 256-260
15. Ismail, A.; El-Hassan, A.M.; Kemp, K.; Gasim, S.; Kadaru, A.E.; Moller, T.; Kharazmi, A.; and Theander, T.G. (1999). unopathology of post kala-azar dermal leishmaniasis (PKDL): T-cell phenotypes and cytokine profile. J-Pathol. 189(4): 615-22
16. Saran, R.; Sharma, M.C.; Gupta, A.K.; Sinha, S.P. and Kar, S.K. (1997). Diurnal periodicity of Leishmania amastigotes in peripheral blood of Indian Kala-azar patients. Acta-Trop. 68(3): 357-60
17. Scrimgeour, E.M.; Mehta, F.R. and Suleiman, A.J.(1999). Infectious and tropical disease in Iman: A review. Ann. J.Trop. Med. Hyg. 61(6):920-5.
18. Sharquie, K.E.; Al-Talip, K. and Chu, A. C. (1988) . Intralesional thetapy of cutaneous Leishmaniasis with sodium stipogluconate antimony . Br. J.Dermatol. , 119 : 53-57 .

مسح وبائي لداء الليشمانيا الجلدية في محافظة ديالى
جابر عودة كاظم ا.د.توفيق ابراهيم محمد الالوسي ا.م.د.عبد الله حسين عبد الله الجبوري .

19. Steinperger, A.; Slutzky, G. M.; LI- on , J. and Greenblat, C.(1984) *Leishmania tropica* protectife response in C3H mice vaccinated with excreted factor crosslinked with synthetic adjuvant, muramyl dipeptide. Exp. Parasitol.,58:223-229 >
20. Suckker , F. (1983). Epidemiology of Leishmaniasis In Iraq. Bull. End. Dis. Baghdad. 22(4):33-51. Sukkar, F. (1972). Vesceral maniasis in Iraq. Bull. End. Dis. 13. (4) pp. 77-83.
21. WHO, (2002) . Special program for research and training in tropical disease (TDR) Geneva. 3-1 .

