مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۶، شماره۶، بهمن و اسفند۱۳۹۰(شماره پی در پی ۶۶)

مشخصات لیشمانیوز احشایی در مخازن حیوانی(سگ) شهرستان بویراحمد و تعیین نوع انگل با روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

حسین انصاری[۱]، عبدالعلی مشفع[۲*]، کاوس صلحجو[۳]، پویا خدادادی[۱]، محسن کلانتری[۴]، اسفندیار افشون[۵]، فرزانه ذهبیون[۴]، بهادر سرکاری[۴]، علی کشتکاری[۶]

[۱]دانشگاه آزاد اسلامی‌جهرم، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، [۲] دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی، [۳] دانشگاه علوم پزشکی جهرم، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی، [۴]دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی، [۵]دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، معاونت تحقیقات و فناوری ، [۶]دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دانشکده پزشکی، گروه اطفال

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۴/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۰/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: بیماری لیشمانیوز احشایی یک بیماری مشترک بین انسان و حیوان است که عامل آن در ایران لیشمانیا اینفانتوم می‌باشد. هدف از این مطالعه تعیین مشخصات لیشمانیوز احشایی در مخازن حیوانی(سگ) شهرستان بویراحمد و تعیین نوع انگل با روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز بود.

روش بررسی: این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۹ بر روی ۱۵ قلاده سگ دارای علایم بالینی لیشمانیوز احشایی از ۷ روستای آندمیک شهرستان بویراحمد انجام شد. از سگ‌های مورد بررسی ۱۰ میلی‌لیتر خون گرفته شد و پس از کالبد گشایی از طحال و کبد آنها لام های تماسی تهیه شده و نمونه‌هایی از این اندام‌ها برداشته شد. بر روی نمونه‌های تهیه شده تست آگلوتیناسیون مستقیم، مطالعات میکروسکوپی و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز به منظور یافتن انگل لیشمانیا و تعیین هویت آن صورت گرفت.

یافته‌ها: در روش سرولوژی از ۱۵ قلاده سگ ۱۴ قلاده دارای تیتر آنتی‌بادی ۱/۳۲۰ و بالاتر بودند و یک قلاده منفی شد. در مطالعه میکروسکوپی گسترش‌های تماسی در ۱۳ قلاده سگ آماستیگوت‌های لیشمانیا مشاهده گردید و ۲ قلاده نیز منفی شدند. با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز انگل موجود در نمونه‌های بافت طحال، کبد و گسترش های تماسی در ۱۴ قلاده سگ لیشمانیا اینفانتوم تشخیص داده شد.

نتیجه‌گیری: تعیین انگل لیشمانیا اینفانتوم در اکثر نمونه‌های مورد بررسی به عنوان عامل ایجاد کننده لیشمانیوز احشایی در سگ‌های این منطقه نشان دهنده الگوی بیماری همانند سایر نقاط کشور می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: واکنش زنجیره‌ای پلی مراز، تست آگلوتیناسیون مستقیم، لیشمانیوز احشایی، سگ، لیشمانیا اینفانتوم

[*] **نویسنده مسئول**: **دکتر عبدالعلی مشفع**، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی
Email: amoshfea@yahoo.com

www.SID.ir
Archive of SID

مقدمه

بیماری لیشمانیوز احشایی در ایران یک بیماری مشترک بین انسان و حیوان(سگ سانان) می‌باشد که عامل آن با توجه به مطالعات انجام گرفته در اکثر نقاط کشور *لیشمانیا اینفانتوم*[1] اعلام شده است که به وسیله گونه‌های مختلف پشه خاکی فلبوتوموس منتقل می‌شود(۱).

این بیماری حدوداً در ۶۶ کشور جهان شیوع دارد و میزان بروز سالیانه آن در دنیا ۵۰۰ هزار نفر تخمین زده می‌شود که دارای علایم بالینی از قبیل؛ بزرگ شدن طحال، کبد، کم خونی و کاهش تمام عناصر سلولی به ویژه گلبول‌های سفید و افزایش گاما گلوبولین‌های خون می‌باشد و در صورت عدم درمان و تشخیص به موقع تا ۹۸ درصد باعث مرگ کودکان می‌شود(۴-۲).

در مطالعه‌های انجام شده در ایران سگ‌ها به ویژه سگ‌های صاحب‌دار به عنوان مخزن اصلی بیماری شناخته شده‌اند و انواعی از پشه‌های خاکی به عنوان ناقلین اصلی بیماری شناسایی گردیده‌اند. هم‌چنین بیماری لیشمانیوز احشایی به عنوان یک بیماری آندمیک در برخی مناطق کشور ایران مطرح می‌باشد که سالانه تعداد قابل توجهی از کودکان را مبتلا می‌سازد. در ایران کانون های اصلی بیماری در استان‌های اردبیل، فارس، آذربایجان شرقی و بوشهر قرار دارند، اما در سایر مناطق نیز بیماری گزارش شده ولی از بروز کمتری برخوردار است(۵).

در شهرستان بویراحمد نیز بر اساس گزارش‌های موجود شیوع سرمی انگل در کودکان مطالعه شده ۳/۱ درصد و در سگ‌های صاحب‌دار مورد مطالعه ۱۰ درصد بود. به نظر می‌رسد بیماری در این منطقه از کشور دارای بستر مناسبی جهت گسترش می‌باشد. لذا مطالعه‌های اولیه جهت شناسایی عامل بیماری و شرایط انتقال آن از ضروریات است تا بتوان از گسترش بیماری در بین مخازن حیوانی و انسان جلوگیری کرد(۶ و۵).

به منظور شناسایی مشخصات بیماری لیشمانیوز احشایی از جمله تعیین جنس و گونه انگل مولد این بیماری در سگ‌های صاحب‌دار شهرستان بویراحمد که در مدیریت این بیماری و برنامه‌ریزی‌های درمانی و مبارزه با آن بسیار کمک کننده است مطالعه حاضر انجام شد. هم‌چنین با توجه به این که امروزه جهت شناخت گونه‌های انگل از روش‌های مولکولی نظیر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز[2] استفاده می‌شود و به دلیل مزایای این روش، بر روش‌های سرولوژی و میکروسکوپی از روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای تشخیص گونه انگل استفاده شد(۷).

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۸۹ انجام شد، ۱۵ قلاده سگ که دارای علایم بالینی لیشمانیوز

1-*LeishmaniaInfantum*
2-Polymerase Chain Reaction(PCR)

Archive of SID

www.SID.ir

احشایی شامل؛ لاغری، ریزش مو، رشد غیر طبیعی ناخن‌ها، زخم جلدی، کوریورتینیت، عینکی شدن چشم‌ها و اختلال در راه رفتن بودند، از ۷ روستای آندمیک شهرستان بویراحمد انتخاب شدند.

پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید و در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید.

ابتدا سگ‌ها را مهار نموده و مقدار ۱۰ میلی‌لیتر خون از ورید سفالیک آنها تهیه گردید و سپس به وسیله کتامین تا حد مرگ آنها را بیهوش نموده و پس از مرگ کالبدگشایی شدند. از کبد و طحال لاشه‌ها لام‌های تماسی تهیه شده و سپس نمونه بافت این اندام ها در الکل ۷۰ درصد قرار داده شد.

سرم خون‌های گرفته شده به وسیله سانتریفیوژ جدا گردید و با استفاده از روش سرولوژیک تست آگلوتیناسیون مستقیم[1] از نظر وجود آنتی‌بادی ضد لیشمانیا تعیین تیتر شدند(۹ و۸). آنتی ژن آگلوتیناسیون مستقیم در آزمایشگاه لیشمانیوز گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران که بر اساس روش هریت و همکاران[2] (۱۹۸۹)تهیه شده استفاده شد(۱۰). ابتدا به کمک محلول رقیق کننده و میکروپلیت‌های وی شکل، رقت‌های مورد نیاز از پلاسمای سگ‌ها تهیه شده و پس از افزودن آنتی ژن به رقت‌های ۱/۸۰، ۱/۱۶۰ و ۱/۳۲۰ میکروپلیت‌ها را درون اتاقک مرطوب قرار داده و در یک سطح افقی در دمای اتاق تا روز بعد (حداقل ۱۷ ساعت) باقی ماندند. برای تفسیر آزمایش، پلیت را روی یک سطح سفید قرار داده و چنانچه در حفره‌ای که آنتی‌ژن در آن ریخته شده بود، انگل‌ها به صورت یک تکمه کوچک آبی رنگ با حاشیه کاملاً جمع شده و در وسط حفره میکروپلیت ته نشین شده بودند، عدم آگلوتیناسیون تلقی شده و نتیجه آزمایش از نظر تشخیص آنتی‌بادی ضد لیشمانیا منفی به حساب می‌آمد و اگر انگل‌ها به صورت کلوئیدی ابری شکل آبی رنگ یکنواخت در تمام مایع موجود در حفره پراکنده شده یا به اصطلاح آگلوتینه شده بودند، نتیجه آزمایش از نظر آنتی بادی ضد لیشمانیا مثبت محسوب می‌شد(۹ و۸).

بالاترین رقت از نمونه سرمی که آگلوتیناسیون در آن ایجاد شده به عنوان حداکثر عیار، پذیرفته می‌شود. در این روش برای نمونه های حیوانی، آنتی بادی ضد لیشمانیا با عیارهای ۱/۳۲۰ و بالاتر به عنوان عفونت لیشمانیوز احشایی و عیارهای پایین تر از ۱/۳۲۰ منفی در نظر گرفته شدند(۱۱).

گسترش‌های تماسی پس از رنگ‌آمیزی با گیمسا با استفاده از میکروسکوپ نوری جهت دیدن آماستیگوت‌ها مطالعه شدند. سپس هم لام‌های مذکور و هم نمونه‌های بافتی با روش واکنش زنجیره‌ای پلی مراز دو مرحله‌ای[3] از نظر وجود DNA انگل لیشمانیا با استفاده از پرایمرهای اختصاصی مورد بررسی قرار گرفتند. برای جداسازی DNA از روش فنل کلروفرم استفاده شد و پرایمرهای به کار برده شده شامل؛ CSB_1 XR با توالی CGA GTA GCA GAA ACT CCC CTT CA و CSB_2XF با

1-Direet Agglutination Test(DAT)
2-Harith et al
3-Nested – PCR

Archive of SID

www.SID.ir

توالیATT TTT CGC GAT TTT CGC AGA ACG برای اولین مرحله واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و پرایمرهای LiR با توالی CTT GCC AAG CAG TCG و 13Z با توالی ACT GGG GGT TGG TGT AAA ATA برای مرحله دوم بودند(۱۴ـ۱۲). پس از پایان واکنش محصول نهایی روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد. در این روش علاوه بر مارکر از نمونه استاندارد مخلوط لیشمانیا ماژور و لیشمانیا اینفانتوم استفاده شد. سپس ژل با استفاده از نور ماوراء بنفش در دستگاه ژل داک از نظر وجود باند DNA تکثیر شده در محدوده مورد نظر بررسی شدند.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از روش‌های آمار توصیفی و در جدول از پیش طراحی شده در مقابل شماره سگ مورد نظر ثبت گردیدند. وزن ملکولی باند به دست آمده برای هر نمونه با مارکر استاندارد مقایسه گردید و نوع انگل تشخیص داده شد.

یافته‌ها

از نظر گروه سنی تمامی‌سگ‌های مورد بررسی در گروه سنی۴ـ۳ سال قرار داشتند.

در روش آگلوتیناسیون مستقیم ۱۴ قلاده سگ دارای تیتر آنتی‌بادی ۱/۳۲۰ و بالاتر علیه لیشمانیا بودند و یک قلاده نیز فاقد تیتر آنتی‌بادی بود.

از ۱۵ لام تماسی طحال در ۱۱ مورد آماستیگوت انگل مشاهده و ۴ مورد منفی شدند، همچنین از ۱۵ لام تماسی کبد در ۱۰ مورد آماستیگوت انگل مشاهده و ۵ مورد منفی شدند. به طور کلی با توجه به نتایج به دست آمده از ۱۵ قلاده سگ، ۱۳ قلاده دارای حداقل یک لام تماسی حاوی آماستیگوت انگل بودند و در لام‌های تهیه شده از ۲ قلاده سگ، آماستیگوت انگل مشاهده نشد.

در روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز از نمونه‌هایی که از بافت طحال و کبد گرفته شده بود و همچنین لام‌های تماسی این بافت‌ها ۱۴ نمونه لیشمانیا اینفانتوم و یک نمونه نیز منفی تشخیص داده شد(تصویر ۱).

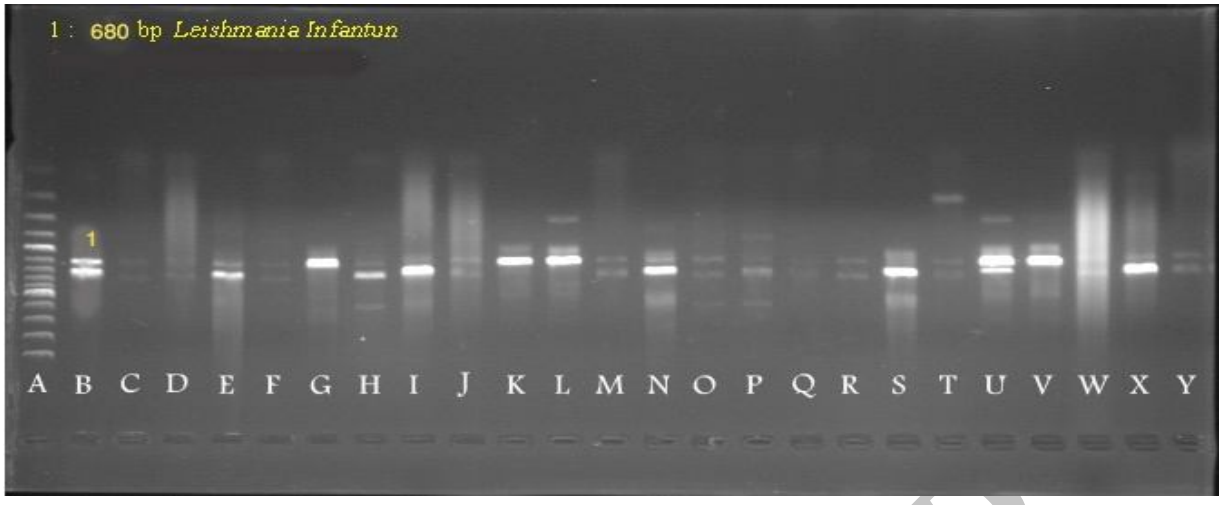
بر اساس پرایمرهای طراحی شده نمونه‌هایی که باند اصلی ۶۸۰ جفت بازی داشتند لیشمانیا اینفانتوم و نمونه‌هایی که باند اصلی ۵۶۰ جفت بازی داشتند لیشمانیا ماژور تشخیص داده شدند(۱۲).

بحث

با توجه به این که مخازن لیشمانیوز احشایی در ایران سگ سانان می‌باشند، لذا تشخیص بیماری در این حیوانات و شناسایی سگ‌های آلوده در انجام برنامه‌های مبارزه و کنترل این بیماری در جامعه انسانی اهمیت فوق‌العاده‌ای دارد(۵). هم‌چنین به خاطر شیوع بیشتر بیماری در سگ سانان و دسترسی آسان تر به این مخازن و هم‌چنین امکان کالبد گشایی و برداشت نمونه‌های حاوی انگل از این حیوانات مطالعه‌های بررسی وضعیت بیماری و شناسایی عامل آن بر روی این حیوانات انجام شد(۱). هدف از این مطالعه تعیین مشخصات لیشمانیوز احشایی در مخازن حیوانی(سگ) شهرستان بویراحمد و تعیین نوع انگل با روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز بود.

Archive of SID

www.SID.ir



تصویر ۱: ژل الکتروفورز محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز نمونه‌های مختلف.

A؛ مارکرbp ۱۰۰، B؛ نمونه استاندارد لیشمانیا اینفانتوم C-H, J-M, O-Q, R-V,W لیشمانیا اینفانتوم، بافت طحال سگ شماره ۴، N؛ بافت کبد سگ شماره ۴، S؛ اسمیر تماسی کبد سگ شماره ۴، X ؛ اسمیر تماسی طحال سگ شماره ۴.

در مطالعه حاضر در ۱۴ مورد از ۱۵ قلاده سگ مورد بررسی عامل بیماری لیشمانیا اینفانتوم تشخیص داده شد که همانند عاملین بیماری شناخته شده در سایر نقاط کشور می‌باشد(۱۶ـ۱۴ و ۹، ۸، ۵). بنابراین علت اصلی بیماری در شهرستان بویراحمد نیز این گونه می‌باشد و برنامه کنترل، مبارزه و درمان بیماری همانند سایر نقاط می‌باشد و از الگوی یکسانی تبعیت می‌کند. البته بایستی ناقل این بیماری نیز با مطالعه‌های دقیق تعیین گردد. در مطالعه محبعلی و همکاران(۲۰۰۱) در استان بوشهر و مطالعه‌ای دیگر در سایر مناطق ایران عامل بیماری لیشمانیوز احشایی، گونه لیشمانیا اینفانتوم اعلام شده است(۱۶و۱۵). در مطالعه‌های انجام شده به وسیله مشفع و همکاران(۲۰۰۹) در شهرستان مشکین شهر تمامی نمونه‌های گرفته شده از پوست و خون سگ‌های علایم دار و فاقد علایم بالینی (۷۱ قلاده سگ) با روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز لیشمانیا اینفانتوم تشخیص داده شدند(۱۷ و ۹).

در مطالعه‌ای که به وسیله محبعلی و همکاران(۱۹۹۸) به منظور بررسی نقش جوندگان به عنوان مخازن احتمالی لیشمانیوز احشایی در شهرستان مشکین‌شهر استان اردبیل انجام شد، تعداد ۱۹۰ جونده از ٤ جنس و گونه مختلف بررسی شدند. در مطالعهٔ میکروسکوپی گسترش‌های تماسی طحال و کبد جوندگان صید شده در ۵۲ مورد(۲۷/۳ درصد) جسم لیشمن مشاهده گردید که از آنها یک مورد لیشمانیا اینفانتوم در هامستر طلایی و یک مورد لیشمانیا دونووانی در مریونس گزارش گردید(۱۸). در مطالعه‌ای دیگر که به وسیله محبعلی و همکاران(۲۰۰۱) با عنوان بررسی اپیدمیولوژی لیشمانیوز جلدی و احشایی و تعیین مخازن آنها در شهرستان‌های دشتی و دشتستان از استان بوشهر انجام گرفت، از ١٤٩٦ نمونه‌ی گرفته شده؛ ۹/۱ درصد دارای تیتر مساوی و بالاتر از ۱:۸۰۰ و ۳/٤ درصد دارای تیتر مساوی و بالاتر از ۱:۳۲۰۰ بودند. در این مطالعه ۱۰۵ قلاده سگ، ۵ قلاده روباه، ۱۰ قلاده شغال

Archive of SID

www.SID.ir

و ۱۵۲ عدد جونده بررسی شدند که در نهایت در ۳ قلاده سگ و ۱ قلاده شغال اجسام لیشمن مشاهده گردید که با روش‌های مولکولی مشخص شد که همگی آنها لیشمانیا اینفانتوم بودند(۱۹).

در مطالعه‌ای جامع به وسیله محبعلی و همکاران(۲۰۰۵) وضعیت آلودگی به لیشمانیا اینفانتوم در سگ‌های اهلی و سگسانان وحشی در ایران بین سال‌های ۲۰۰۳-۱۹۹۹ منتشر شده است. در این مطالعه از روش سرولوژی آگلوتیناسیون مستقیم برای تعیین میزان آلودگی و از روش‌های انگل‌شناسی، روش‌های ملکولی و بیوشیمیایی برای تعیین جنس و گونه انگل استفاده شده است. از ۱۵۶۸ نمونهٔ سرم تهیه شده از سگ‌های اهلی در نقاط مختلف ایران ۲۲۲ مورد (۱۴/۲ درصد)، دارای آنتی‌بادی ضد لیشمانیا با عیار مساوی یا بیشتر از ۱:۳۲۰ بودند. ۱۰ درصد از ۳۰ قلاده سگسانان وحشی مورد مطالعه به لیشمانیا اینفانتوم آلودگی داشتند. تعداد ۱۰ مورد از ۱۱ مورد لیشمانیاهای جدا شده از سگ‌ها و سگسانان وحشی با روش‌های ملکولی و بیوشیمیایی لیشمانیا اینفانتوم و یک مورد لیشمانیا تروپیکا تشخیص داده شدند(۲۰).

در برخی مواقع ممکن است انگل به صورت اتفاقی در میزبان های غیر معمول گزارش شود و یا اینکه انگل جدا شده از سگ ها نوع دیگری از لیشمانیا باشد. همانند گزارش لیشمانیا اینفانتوم از گربه به وسیله سرکاری و همکاران(۲۰۱۰) و گزارش آلودگی هامستر به لیشمانیا اینفانتوم به وسیله محبعلی و همکاران(۱۹۹۸) که در برخی مناطق حیوانات غیر مخزن نیز آلوده می‌شوند(۱۸ و۶).

نتیجه‌گیری

به هر حال یافته اصلی این مطالعه شناسایی گونه مولد لیشمانیوز احشایی است و بایستی با توجه به آلودگی قابل توجه سگ های صاحب‌دار شهرستان بویراحمد به لیشمانیا اینفانتوم برنامه‌هایی از قبیل آموزش مردم منطقه در خصوص این بیماری و نحوه انتقال آن اجرا شود و در صورت مشاهده کودکان بیمار و یا سگ‌های دارای علایم به مراکز درمانی و مراکز بهداشتی اطلاع رسانی شود. پیشنهاد می‌شود در سایر شهرستان‌های استان کهگیلویه و بویراحمد نیز خصوصیات بیماری لیشمانیوز تعیین شود تا بتوان با برنامه ریزی دقیق این بیماری را کنترل نمود. لازم است به منظور اجرای دقیق برنامه مد نظر مطالعه‌هایی نیز جهت تعیین گونه پشه‌های خاکی ناقل این بیماری در این استان صورت گیرد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد می‌باشد که در دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شد. از همکاری دکتر مهدی محبعلی، جلال نوشادیان و بهناز آخوندی در اجرای این مطالعه تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

Archive of SID

www.SID.ir

REFERENCES

1.Gavgani AS, Mohite H, Edrissian GH, Mohebali M, Davies CR. Domestic dog ownership in Iran is a risk factor for human infection with Leishmania infantum. Am J Trop Med Hyg 2002; 67(5): 511-5.
2.Desjeux P. Worldwide increasing risk factors for leishmaniasis. Med Microbiol Immunol 2001; 190(1-2): 77-9.
3.Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2004; 27: 305–18.
4.World Health Organization. 2007. http://www.who.int/ctd/chagas/disease.htm
5.Mohebali M, Edrissian GH, Shirzadi MR, Akhoundi B, Hajjaran H , Zarei Z, et al. An observational study on the current distribution of visceral leishmaniasis in different geographical zones of Iran and implication to health policy. Travel Medicine and Infectious Disease 2011; 9: 67e74
6.Sarkari B, Pedram N, Mohebali M, Moshfe AA, Zargar MA, Akhoundi B, et al. Seroepidemiological study of visceral leishmaniasis in booyerahmad district, south-west Islamic Republic of Iran. Eastern Mediterranean Health Journal EMHJ 2010; 16: 2010.
7.Khalili M, Nourollahi-fard SR. Detection and genotyping of cutaneous leishmaniasis species in the southeast of Iran: restriction enzyme analysis (RFLP). Tehran University Medical Journal 2009; 67(3):168-72.
8.Fakhar M, Mohebali M, Barani M. Identification of endemic focus of Kala _ azar and seroepidemiological study of Viseral Leishmania infection in Human and Canine in Qom province, Iran. Quartely Journal of Yasuj University of Medical Science(Armaghane-danesh) 2004; 33: 43-51.
9.Moshfe A, Zarei Z, Akhoundi B, Edrissian Gh. Comparsion between Serology and PCR methods for the diagnosis of viseral leishmaniasis quarterly. Journal of YasujUniversity of Medical Science(Armaghane-danesh) 2009;14(2): 31-43.
10.Harith A, Salappendel RJ, Reiter I, Knapen F, Korte P, Huigen E, et al. Application of a direct agglutination test for detection of specific antileishmania antibodies in the canine reservoir. J. Clin. Microbiol 1998; 27: 2252–7.
11.Mohebali M, Edrissian GhH, Nadim A, Hajjaran H, Akhoundi B, Hooshmand B, et al. Application of direct agglutination test (DAT) for the diagnosis and seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis in Iran. Iran J Parasitol 2006;1:15–25.
12.Moemenbellah-Fard MD, Kalantari M, Rassi Y, Javadian E. The PCR-based detection of Leishmania major infections in Meriones libycus (Rodentia:Muridae)from southern Iran. Annals of Tropical Medicine &Parasitology 2003; 97(8): 811-6.
13.Motazedian MH, Noyes HA. Leishmania and Sauroleishmania: the use of random amplified polymorphic DNA for the identification of parasites from vertebrates and invertebrates. Exp Parasitol 1996; 83(1): 15e154.
14.Moshfe A, Mohebali M, Edrissian GhH, Zarei Z, Akhoundi B, Kazemi B, et al. Seroepidemiological study on canine visceral leishmaniasis in Meshkin-Shahr district, Ardabil province, northwest of Iran during 2006e2007. Iranian J Parasitol 2008; 3(3): 1e10.
15.Mohebali M, Hamzavi Y, Edrissian GhH, Frouzani AR. Seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis in Bushehr province South I R of Iran. East Mediterr Health J 2001; 7: 912–7.
16.Mohebali M, Motazedian MH, Parsa F, Hajjaran H. Identification of Leishmania species from different parts of Iran using a randomamplified polymorphic DNA in human, animal reservoirs and vectors. Med J Islamic Rep Iran 2001; 15: 243–6.
17.Moshfe AA, Mohebali M, Edrissian GH, Zarei Z , Akhoundi B, Kazemi B, et al. Canine visceral leishmaniasis: Asymptomatic infected dogs as a source of L. infantum infection. Acta Tropica 2009; 112: 101–5
18.Mohebali M, Poormohammadi B, Kanani A, Edrissian GhH, Anvari S. Rodents-Gerbillidae-Cricetidae-another animal host of visceral leishmaniasis in Meshkin-Shahr district IR of Iran. East Mediterr Health J 1998; 4: 376-78.
19.Mohebali M, Hamzavi Y, Fallah E, Zarei Z. Study of canine visceral leishmaniasis in some parts of Iran and its health importance. Tehran Univ Vet Fac J 2001; 56: 55–9.
20.Mohebali M, Hajjaran H, Hamzavi Y, Mobedi I, Arshi Sh, et al. Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniosis in the Islamic Republic of Iran. Vet Parasitol 2005; 129: 243–51.

Archive of SID

www.SID.ir

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Characterization of Visceral leishmaniasis in Reservoir Host (dogs) and Determination of Agent by PCR in Boyer-Ahmad District, Iran

Ansari H[1],Moshfe AA[2*], Solhjoo K[3], Khodadadi P[1] , Kalantari M[4], Afshoon E[5], Zahabiun F[4] , Sarkari B[4], Keshtkari A[6]

[1]Departement of Biology, Faculty of Basic Sciences, Jahrom Azad University , Jshrom, Iran,[2]Departement of parasitology, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran,[3]Departement of parasitology, Faculty of Medicine, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran, [4]Departement of parasitology, Faculty of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran,[5]Research Management, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran,[6] Departement of Pediatrics, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received: 26 June 2011 Accepted: 17 Jan 2011

Abstract

Background & Aim: Visceral Leishmaniasis (VL) is an endemic disease in some parts of Iran. *Leishmania infantum* is the agent of disease in studied areas. The aim of the present study was the characterization of visceral leishmaniasis in reservoir host (dogs) and determination of agent by molecular method in Boyer-Ahmad district, Iran

Methods: In this study 15 infected dogs with symptoms of canine visceral leishmaniasis were selected from 5 VL endemic villages of Boyer-Ahmad district in 2010. All cases were tested by DAT for evaluation of anti leishmanial antibodies. After necropsy, parasitological study was conducted by use of impression smear of liver and spleen. Nested PCR was use to detect the parasite DNA in the liver and spleen tissues.

Results: From fifteen cases, fourteen dogs had antibody titer above of 1:320 while one of the cases was seronegative. *Leishmania* amastigotes was seen in 13 smears of liver and spleen (13 cases). The agent of disease in 14 dogs determined as *Leishmania infantum* by nested PCR.

Conclusion: This study confirmed that *Leishmania infantum* is the causative agent of canine VL in Boyer-Ahmad and the diseases pattern is similar to the rest of country.

Key words: PCR, DAT, Visceral, leishmaniasis, Dog, *Leishmania Infantum*

[*]**Corresponding Author: Moshfe AA**, Departement of Parasitology, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran
Email: amoshfea@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir