مطالعه آلودگی جوندگان به لیشمانیازیس احشایی با روش‌های پارازیتولوژی، سرولوژی ومولکولی(PCR) درمنطقه سراب از استان آذربایجان شرقی در سال ۹۱-۹۰

اسماعیل فلاح *[۱]، عباس شهبازی[۱]، نصیبه شهبازی[۱]، احد بازمانی[۱]، مجید خانمحمدی[۲]

چکیده

لیشمانیازیس احشائی یکی از بیماری‌های عفونی ـ انگلی و مشترک در کشورهای حوزه مدیترانه و خاورمیانه از جمله ایران می‌باشد. عامل اصلی لیشمانیازیس احشائی در ایران *لیشمانیا اینفانتوم* و مخزن اصلی بیماری، سگ و سگسانان می‌باشد. عفونت‌هایی از لیشمانیا اینفانتوم در جوندگان نیز به اثبات رسیده است. این تحقیق جهت بررسی عفونت لیشمانیازیس احشائی در میان جوندگان شهرستان سراب و نقش احتمالی جوندگان در انتقال بیماری به انسان با روش پارازیتولوژی ،سرولوژی و مولکولی در سال ۹۱-۹۰ انجام گرفت. در این مطالعه ۱۰۰جونده از چهار گونه و جنس مختلف بوسیله تله های زنده گیر صید شد که قبل از کشته شدن، نمونه‌های خون جوندگان داخل ویال‌های پلی پروپیلن جمع‌آوری شده و با استفاده از تست آگلوتیناسیون مستقیم (DAT) مورد آزمایش قرار گرفت. ۱ جونده (۱٪) دارای تیتر سرمی مثبت و ٦ جونده (٦٪) دارای تیترهای سرمی پائین‌تر از مثبت و ۹۳ جونده سرم منفی بودند. تمام گسترش‌های تماسی تهیه شده از بافت کبد و طحال مورد مطالعه قرار گرفتند که در نهایت در هیچ کدام از آنها جسم لیشمن مشاهده نشد. قسمتی از بافت طحال و کبد جوندگان در محیط کشت NNN و RPMI 1640 کشت داده شدند، اما انگل لیشمانیا از محیط کشت‌ها جدا نشد. در نهایت از بافت طحال ۱۰۰جونده استخراج DNA صورت گرفت و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی-k DNA آزمایشPCR انجام شد و در آزمایش مولکولی باند مربوط به جنس لیشمانیا مشاهده نگردید.

واژگان کلیدی: *لیشمانیازیس احشائی، جوندگان، آگلوتیناسیون مستقیم (DAT)، سراب*

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/ ۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۳/۲/۲۹

مقدمه

لیشمانیازیس احشائی یکی از بیماری‌های مهم مشترک در کشورهای حوزه مدیترانه و خاورمیانه ازجمله ایران می‌باشد و عامل آن تک یـاختـه درون سلولی به نام *لیشمانیا اینفانتوم* می‌باشد(۲و۱). شیوع سالانه لیشمانیازیس احشائی ۵۰۰ هزار نفر و مرگ و میر آن در نقاط مختلف در حدود ۷۵۰۰۰ نفر می‌باشد(۳و۲). پشه‌های خاکی ناقل لیشمانیا از خانواده پسیکودیده (Psychodidae) بیشتر متعلق به جنس‌های لوتزومیا (Lutzoumyia) و فلبتوموس (Phlebotomus)، بوده و انگل را بین مخازن حیوانی و انسان انتقال می‌دهند(۲). سگ به عنوان مخزن اصلی و شغال و روباه از مخازن وحشی انگل به شمار می‌روند. البته سایرحیوانات نظیر جوندگان هم به عنوان مخزن مطرح می‌باشند (٦و٤،٥). سگ‌های اهلی بدون علائم بیماری مهمترین مخزن برای پشه خاکی‌های ناقل جهت انتقال انگل به انسان هستند(۸و۷). مطالعات اپیدمیولوژیک متعددی که در سال‌های اخیر در برخی از مناطق کشور بر روی عامل بیماری، مخازن حیوانی، عفونت انسانی و ناقلین، نشان می‌دهد که عفونت لیشمانیازیس احشائی در انسان و بعضی از مخازن حیوانی، علاوه بر کانون‌های اندمیک قبلی شامل استان‌های اردبیل (مشکین‌شهر و مغان)، آذربایجان شرقی (اهر و کلیبر)، استان فارس (فیروزآباد و جهرم)، درسایر نقاط به صورت تک‌گیر (اسپورادیک) گزارش می‌گردد (۱۱و۱۰،۹). شیوع سرمی بیماری در مناطق مختلف ایران از ۱۰تا۳۷٪ گزارش گردیده است(۱). اولین مطالعه‌ای که در سال ۱۳٤۲ در شمال شرق ایران بر روی مخازن لیشمانیا صورت گرفت، آلودگی جوندگان به انگل لیشمانیا را اثبات کرد (۱۲). در چندین مطالعـه دیگـر نیـز آلودگی جـوندگان به انگل لیشمانیا اثبات

*۱- مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، گروه انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران Efallah37@gmail.com
۲- گروه علوم آزمایشگاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرند، مرند، تبریز، ایران

Archive of SID
www.SID.ir

شد(۱٤و۱۳،۷). با توجه به اینکه سوش جدا شده از جوندگان مشکین شهر و آذر شهر *لیشمانیا اینفانتوم* LON49 تعیین گردیده بود و این انگل دقیقا همان سویه‌ای بود که از سگ و سگ سانان و نیز افراد مبتلا در آن مناطق جدا شده است (۷و۵). بنابراین می‌توان گفت که جوندگان نیز می‌توانند به عنوان یکی دیگر از مخازن لیشمانیازیس احشائی محسوب شوند. علی‌رغم آنکه روش قطعی جهت تشخیص لیشمانیازیس احشائی مشاهده اشکال اماستیگوت در گسترش‌های تهیه شده از بافت و مغز استخوان می‌باشد، ولی در زمانی که تعداد انگل کم باشد از حساسیت پایینی برخوردار است و همیشه به راحتی نمی‌توان انگل را مشاهده کرد(۱۵). در سال ۱۹۸٦روش سرولوژی آگلوتیناسیون مستقیم (DAT) توسط Harith و همکاران برای تشخیص و سرواپیدمیولوژی لیشمانیازیس احشائی پیشنهاد شد(۱٦). با توجه به شرایط اکولوژیک شهرستان سراب هدف از این تحقیق مطالعه اپیدمیولوژیکی شیوع سرمی لیشمانیازیس احشائی بین جوندگان وحشی شهرستان سراب (آذربایجان شرقی) و نقش احتمالی جوندگان در انتقال این بیماری به انسان می‌باشد، برای اولین بار مطالعه‌ای با دید اپیدمیولوژیک راجع به وضعیت کنونی این بیماری در جوندگان شهرستان سراب طی سال ۱۳۹۱ به اجرا در آمد.

مواد و روش کار

منطقه مورد مطالعه و موقعیت جغرافیایی

شهرستان سراب دارای وسعت ۳٤٥۲/۲ کیلومتر مربع رتبه سوم را بین شهرستان‌های استان آذربایجان شرقی دارا می‌باشد(۱۷). در این بررسی با هماهنگی‌های صورت گرفته با اداره کل محیط زیست و مراکز بهداشتی سراب مجموعا ۱۰۰جونده از مناطق مختلف سراب و روستاهای آن با استفاده از تله‌های زنده گیرازتیرماه ۱۳۹۰تا آذرماه ۱۳۹۱ صید گردید. جوندگان صید شده به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده پزشکی انتقال و پس از بیهوشی با کلروفرم برای تعین جنس و گونه جوندگان مشخصات ظاهری هر جونده از نظر جنس، رنگ، محل و معاینات بالینی از نظر وجود علایم لیشمانیازیس احشائی شامل (ضایعات جلدی، ریزش مو، لاغری، زخم پوزه و گوش) معاینه شده و در فرم‌های خاصی که به این منظور تهیه شده بود، ثبت گردید. بعد از زنده‌گیری جوندگان بلافاصله کالبدگشایی شده و حدود ۱ میلی‌لیتر خون قلبی داخل لوله‌های پلی پروپیلن (Polypropylene) تـوسط سرنگ کشیده شد، بعد از گذشت ۱۰-٦ ساعت، نمونه های اخذ شده به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از تکنیک‌های آزمایشگاهی و سانتریفیوژ با دور۸۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه اقدام به جداسازی سرم‌ها گردید. در نهایت سرم‌ها جهت انجام تست DAT در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در محل کالبد شکافی ابتدا دو عدد گسترش تماسی از طحال یا کبد گرفته و بلافاصله با الکل متانل ۹۵٪ فیکس شده و در نهایت در آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده پزشکی تبریز با رنگ‌آمیزی گیمسا ۱۰٪ نمونه‌ها مورد بررسی‌های پارازیتولوژی از نظر جسم لیشمن قرار گرفتند. بخش کوچکی از طحال و کبد حیوانات را در محیط‌های کشت اختصاصی *لیشمانیا اینفانتوم* شامل NNN و RPMI 1640 همراه با ۲۰٪ سرم جنینی گاو کشت داده شدند. جهت انجام تست گلوتیناسیون مستقیم ازآنتی ژن *لیشمانیا اینفانتوم*که درآزمایشگاه مرکز مبارزه با بیماری‌های عفونی براساس روش هاریث و همکاران ۱۹۸٦ تهیه شده بود، استفاده گردید(۸). دراین روش آنتی ژن در مجاورت رقت‌های مختلف سرم جوندگان قرار داده شد، که در صورت حضور آنتی‌بادی اختصاصی در سرم، پس از گذشت ۲٤ ساعت آگلوتیناسیون صورت می‌گرفت(۱۸). در هر بار آزمایش از یک سرم مثبت به عنوان شاهد مثبت و از یک سرم منفی به عنوان شاهد منفی برای کنترل در کنار نمونه سرم جوندگان استفاده شد. از نظرتشخیص آنتی بادی لیشمانیا در مخازن تیتر ۱:۳۲۰ و بالاتر مثبت و تیترهای پایین‌تر از آن تا ۱:۸۰ مشکوک و تیترهای پایین‌تر منفی محسوب می‌شدند(۱۲). در آزمایش مولکولی با استفاده از روش PCR-kDNA پس از استخراج DNA از بافت طحال با استفاده از پرایمرهای اختصاصی kDNA(TCGCAGAACGCCCCTACC)-5,F1

www.SID.ir
Archive of SID

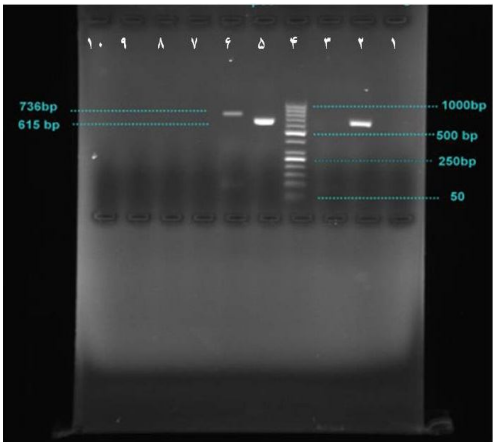
و (AGGGGTTGGTGTAAAATAGG)-3,R1 برای جنس لیشمانیا، آزمایش PCR انجام گرفت، پرایمرهای بکار رفته، پرایمرهای توصیه شده برای روش PCR-kDNA توسط فرج‌نیا و همکاران بود(۱۹).

نتایج

در این بررسی مجموعا ۱۰۰ جونده از چهار جنس و گونه مختلف صید گردید که شامل ٥٤٪ موش خانگی (*Mus musculus*)، ۳۸٪ *مریونس پرسیکوس* (*Meriones persicus*)، ۷٪ هامستر خاکستری (*Cricetalus migratorius*) و ۱٪ هامستر طلائی (*Mesocetus auratus*) بودند. از نظر پارازیتولوژی در گسترش‌های تماسی تهیه شده از ۱۰۰ جونده اجسام لیشمن مشاهده نشد. با در نظر رفتن تیتر ۳۲۰: ۱ و بالاتر مثبت و تیتر ۸۰: ۱ به عنوان تیتر مشکوک از مجموع ۱۰۰ جونده صید شده یک (۱٪) جونده دارای تیتر مثبت، ٤(٤٪) جونده دارای تیتر۱/۸۰ و مشکوک، ۲(۲٪) جونده دارای تیتر پائین‌تر از ۱/۸۰ و ۹۳ (۹۳٪) جونده دیگر از نظر سرولوژی منفی بودند. نتایج حاصل از کشت انگل در محیط کشت NNN,RPMI 1640 و منفی بود و انگل لیشمانیا از کشت بافت‌ها ایزوله نشد. برای اطمینان بیشتر از نتایج آزمایشات انجام شده از بافت‌های طحال ۱۰۰ جونده صید شده استخراج DNA صورت گرفت و بر روی آنها PCR انجام شد. در آزمایشات مولکولی باندی که مربوط به جنس لیشمانیا باشد، مشاهده نشد.

جدول ۱ـ نتایج کلی تست DAT جهت تعیین عیار آنتی بادی بر علیه لیشمانیا در جوندگان صید شده در شهرستان سراب سال ۹۱-۹۰

گونه	تعداد	منفی	۱:٤۰	۱:۸۰	۱:۱٦۰	۱:۳۲۰
موس موسکولوس(*Mus musculus*)	٥٤	٥۰	۲	۱	–	۱
مریونس پرسیکوس(Meriones persicus)	۳۸	۳۷	–	۱	–	–
هامستر خاکستری(*Cricetalus migratorius*)	۷	٥	–	۲	–	–
هامستر طلائی(*Mesocetus auratus*)	۱	۱	–	–	–	–
کل	۱۰۰	۹۳	۲	٤	–	۱



نگاره ۱ـ ژل الکتروفورز محصولات PCR- K-DNA در نمونه‌های مختلف، از راست به چپ: ۱- کنترل منفی بدون DNA ۲- کنترل مثبت لیشمانیا ماژور استخراج شده از محیط کشت ٤- مارکر۱۰۰جفت بازی ٥- کنترل مثبت *لیشمانیا ماژور* استاندارد تجاری ٦-*لیشمانیا اینفانتوم* استخراج شده از محیط کشت ۳،۷،۸،۹،۱۰- نمونه‌های مربوط به جوندگان

بحث

سازمان بهداشت جهانی WHO عفونت ناشی از *L.infantum* را بعنوان یکی از ٦ بیماری عفونی مهم انسان در دنیا اعلام نموده است. مخزن اصلی بیماری سگ و سگ سانان ولی در جوندگان نیز دیده شده است(٥و٤). علاوه بر نقش قطعی سگ‌ها به عنوان مخزن اصلی درصد نسبتا بالایی از جوندگان در مشکین شهر و آذر شهر از نظر سرولوژیکی نسبت به لیشمانیازیس احشایی مثبت بودند(۷و٥). درمطالعات Bella در ایتالیا در سال ۲۰۰۳ از ٦۰ جونده صید شده انگل *لیشمانیا اینفانتوم* تنها از *Rattus norvegicus* جدا شد(۱۳). در مطالعات Ashford درسال ۱۹۹٦در اسپانیا انگل لیشمانیا از *Rattus Rattus* جدا شد(۱٤). مطالعات مشابه دیگری نیز

Archive of SID
www.SID.ir

در سایر نقاط اندمیک جهان صورت گرفته است. انگل *لیشمانیا اینفانتوم* از *Rattus rattus* در عراق و ترکیه گزارش گردیده است(۲۰). در مناطق اندمیک لیشمانیازیس احشائی در برزیل بیشترین گونه جوندگان *Rattus rattus* و *Thrichomys apereoides* بودند که از چندین گونه *Rattus rattus* *لیشمانیا دنوانی*، *لیشمانیا مکزیکانا* و *لیشمانیا برازیلنس* جدا شدند(۲۱).در سال ۲۰۰۹ در مطالعه‌ای در یونان از ۱٦جونده انگل *لیشمانیا اینفانتوم* را از *Rattus norvegicus* جدا کردند(۲۲). در این مطالعه از ۱۰۰ جونده صید شده یک (۱٪) جونده از نظر سرولوژی دارای تیتر۱:۳۲۰ مثبت و ٦ (٦٪) جونده دارای تیتر کمتر بودند، که تیتر مثبت و دو مورد تیتر مشکوک مربوط به موش خانگی بود. ولی در گسترش‌های تماسی بافتی جسم لیشمن مشاهده نشد. محیط‌های کشت از نظر وجود انگل لیشمانیا منفی بودند. در مطالعه دیگری در مشکین شهر توسط محبعلی و همکاران در مشکین شهر صورت گرفت از ٤۱۹ جونده صید شده ۸ جونده (٦/۲٪) از نظر سرولوژی مثبت بوده که از ۳ جونده به روش مولکولی دو *مریونس پرسیکوس*، *لیشمانیا دنوانی*LON-50 و از یک هامستر طلائی *لیشمانیا اینفانتوم* LON-49 جدا شد. این گونه از *لیشمانیا اینفانتوم* در این منطقه از سگ و انسان نیز جدا شده بود که در این مطالعه احتمال نقش جوندگان به عنوان انتقال دهنده بیماری به انسان بیشتر بروز می‌کند(۱٤). در سال ۱۹۹۵ در مشکین شهر در مطالعه صورت گرفته توسط محبعلی و همکاران از ۱۲۰ جونده صید شده در این منطقه ۱٦ جونده (۱۳/۳٪)از نظر سرولوژی با روش (DAT) مثبت گزارش شدند. از مجموع ٤۱۹ جونده ۷سر موش خانگی بود و تنها ٦ سر دارای تیتر ۱:۱۰ بود، و در اسمیر هیچ یک از موش‌های خانگی جسم لیشمن مشاهده نشد(۲۳). در مطالعه‌ای در سال ۱۹۷۵ در منطقه آذر بایجان شرقی توسط ادریسیان در جونده ای از گونه *مریونس پرسیکویس* عفونت لیشمانیا به طور طبیعی دیده شد. در این مطالعه از گسترش‌های تهیه شده از خون و اندام‌های داخلی جونده اماستیگوت مشاهده نشد ولی در گسترش تهیه شده از زخم روی پوست اماستیگوت مشاهده شد که احتمال لیشمانیوز جلدی را در *مریونس پرسیکوس* گزارش کردند (۲٤). در مطالعه مشابه دیگری در سال ۱۳۸۲ در آذرشهر از ۲٥٦ جونده صید شده ۱٤ جونده دارای تیتر۱:۸۰ و بالاتر که از این تعداد ٥ جونده دارای تیتر مثبت بودند، *لیشمانیا اینفانتوم* از یک هامستر خاکستری و یک هامستر طلائی جدا شد(٥). با استناد به آزمایشات سرولوژی در این تحقیق و مطالعات انجام یافته در مناطق مختلف که در متن اشاره شد، می‌توان گفت جوندگان می‌توانند به عنوان یکی از مخازن لیشمانیوز احشایی در انتقال بیماری به انسان و سایرحیوانات نقش داشته باشند. در این مطالعه ۱٪ از جوندگان از نظر لیشمانیوز احشایی و در مطالعه خانمحمدی و همکاران ۹/۱٪ از سگ سانان سراب به روش سرولوژی آلوده گزارش شدند(۱۱). با توجه به همجواری سراب با مناطق اندمیک بیماری احتمال آلودگی بیشتر در منطقه وجود دارد که با مطالعات وسیع درطی زمان بیشتر و روی تعداد بیشتری از جوندگان و همچنین بامطالعه روی ناقلین می‌توان با قاطعیت بیشتر لیشمانیازیس را دراین منطقه ثابت کرد.

تشکر و سپاسگزاری

این مطالعه با حمایت مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی تبریز و بعنوان طرح شماره ۱٦-۹۰ آن مرکز اجرا گردیده است. «این مقاله منتج از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد خانم نصیبه شهبازی با شماره پایان‌نامه ۹۰/۲-۲/۳ می‌باشد.»

www.SID.ir

فهرست منابع

1. Mohebali, M., Hajjaran, H., Hamzavi, Y., Mobedi, I., Arashi, S., Zarei, Z., Akhoundi, B., Naeini, K.M., Avizhe, R., Fakhar, M. (2005): Epidemiologicalaspects of canine visceral leishmaniosis in the Islamic Republic ofIran. Vet. Parasitol. 129: 243–251.
2. WHO (1993): Epidemiology, diagnosis and control of leishmaniosis in the mediteranean area MZCP/LEISH/93.3 Athens, Greece.
3. Desjeuxp. (2004):Leishmaniasis;current situation and new perspectives. CIMID.27: 305-318.
4. Hamidi, A.N., Nadim, A., Edrissian, G.H., Tahvildar-Bidrouni, G.H., Javadia, E. (1982): Visceral leishmaniasis of jackals and dogs in northern Iran. Trans R Soc Trop. Med. Hyg. 76: 756-757.
5. Fallah, E., Farshchian, M., Mazlomi, A., Majidi, J., Kusha, A., Mardi, A., Mahdipoorzareh, N. (2005): Study on the prevalence of visceral Leishmaniasis inrodent's of Azarshahr district (new focus), northwest of Iran. Arch. Razi Institate. 61(7): 27-33.
6. Mohebali, M., Motazedian, M.H., Parsa, F., Hajjaran, H. (2002): Identification of Leishmania species from different parts of Iran using a random amplified polymorphic DNA in human, animal reservoirs and vectors. Med. J. Islam. Repub. Iran. 15: 243-246.
7. Mohebali, M., Poormohammadi,B., Kanani, A., Hajjaran, H., Edrissian, G.H. (1998): Rodents:another group of animal hosts of visceral leishmaniasis in Meshkinshahr district,Islamic Republic of Iran. LRS. Mediterr. Orie. 4(2): 376-378.
8. Moshfe, A., Mohebali, M., Edrissian, GH., Zarei, Z., Akhoundi, B., Kazemi, B., Jamshid, SH., Mahmoodi, M. (2008): Seroepidemiological Study on Canine Visceral Leishmaniasis in Meshkin-Shahr District, Ardabil Province, Northwest of Iran during 2006-2007. Iranian. J. Parasitol. 3(3): 1-10.
9. Edrissian, GH., Hafizi, A., Afshar, A., Soleimanzadeh, GH., Movahed Danesh, A.M., Garoussi A. (1988): An endemic focus of visceral leishmaniasis in Meshkin-shahr,East Azaerbaijan Provience, Northwest part of Iran and IFA serological survey of disease in this area. Bullt. de Ia socie. Patho. Exot. 81:238-248.
10. Mohebali, M., Bahman rokh, M., Mosavifar, A. (2000): Parasitological and histopathological study of visceral leishmaniasis in a number of Dogs in Meshkinshahr. Paghoh. va Sazan. 37: 10: 4, 122-25.
11. Khanmohammadi, M., Fallah, E., Rahbari, S., Sohrabi, I., Farshchian, M., Hamzavi, F., Mohammadpour, A, A. (2010): Seroepidemiological survey of canine Visceral leishmanisis in Sarab District Azerbaijan Province, Northwest of Iran in 2009. Afric. J. Micro. Res. 4(19):2022-2028.
12. Nadim, A., Faghih, M. (1968): The epidemiology of cutaneous leishmaniasis in the Isfahan province of Iran. Transactions of the Royal Society of Tropica Medicine and Hygiene.62:534-42.
13. Di Bella, C., Vitale, F., Russo, G., Greco, A., Milazzo, C., Aloise, G and Cagnin, M. (2003): Are rodents a potentian reservoir for Leishmania infantum in Italy? J. Moun. Ecology. 7 (Suppl.):125-129.
14. Ashford, R.W.(1996): Leishmanisis resernoirs and their significance in control. Clin. Derma. 14:523-532.
15. Handemir, E., Oncel, T., Kamburgil. (2004): Seroprevalence of visceral Leishmaniasid in stray Dogs Istanb.Turk. Paraz. Derg. 32(3):183-6.
16. Harith, AE., Kolk, AH., Kager, PA. (1986): A simple and economical direct agglutination test for serodiagnosis and sero epidemiological studies of visceral Leishmaniasis. Tran. R Soc. Med. Hyg. 80(4):583-7.
17. Statistical calendar of East Azerbaijan Province 2002 and management and planning organization east Azerbaijan Province, GIS Unit.
18. Edrissian, GH., Ahanchin, AR., Gharachahi, AM., Ghobani, M. (1993): Seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis and search for animal reservoirs in Fars provience,Southern Iran. Iran. J. Med. Scie. 18(3&4):99-105.
19. Farajnia, S., Alimohammadian, M.h., Reiner, N.E., Karimi,M., Ajdari, S., Mahoudi, F. (2010): Molecular characterization of a novel

Archive of SID

www.SID.ir

amastigote stage specific Class I nuclease from Leishmania major. Intern. J. para. 34:899-08.
20. Desjeux, P. (1991): Information on the epidemiology and control of the leishmaniases by country or territory. world heal. organ. leish. 91.30.
21. Fernanda S.O., Pirmez C., Pires M.Q., Brazil R.P., Pacheco R.S. (2005): PCR-based diagnosis for detection of Leishmania in skin and blood of rodents from an endemic area of cutaneous and visceral leishmaniasis in Brazil. Vet. Parasitol. 129(3-4):219-27.
22. Papadogiannakis E., Spanakos G., Kontos V. , Menounos P.G., Tegos N., Vakalis N. (2010): Molecular detection of Leishmania infantum in wild rodents (Rattus norvegicus) in Greece. Zoon. Public. Health. 57(7-8):e23-5.
23. Mohebali, M., Nasiri, M., Kanani, A., Edrissian, GhH., Anvari, S., Nadim, A. (1995): Cricetulus migratorius (gray hamster) another possible animal reservoir of Kala-Azar in Meshkin Shahar. Iran. J. Pup. Health. 243-4.
24. Edrissian GH, (1975): Meriones persicus, another probable reservoir of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Iran. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 69(5-6):517-9.

Archive of SID

www.SID.ir