Original Article

مجله دنیای میکروب ها
سال سوم، شماره دوم (پیاپی ۷)، تابستان ۱۳۸۹
صفحات ۱۲۲-۱۱۷

شناسایی لیشمانیا اینفانتوم با روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه‌ای در مخازن حیوانی شهرستان بویراحمد

حسین انصاری[۱]، دکتر عبدالعلی مشفع*[۲]، دکتر کاوس صلح جو[۳]، پویا خدادادی[۱]

[۱]کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی، [۲]استادیار، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
[۳]استادیار، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم

چکیده

سابقه و هدف: لیشمانیوز احشایی (کالا آزار) از جمله بیماری‌های انگلی مشترک بین انسان و حیوان است که عامل آن لیشمانیا اینفانتوم و مخزن اصلی آن سگ و سگ سانان می‌باشد. هدف از این پژوهش، شناسایی مولکولی انگل مولد لیشمانیوز احشایی در سگ‌های شهرستان بویراحمد بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش برای جداسازی انگل لیشمانیا، از گسترش‌های تماسی تهیه شده از طحال و کبد ۱۵ قلاده سگ دارای علایم بالینی لیشمانیوز احشایی شهرستان بویراحمد در سال ۸۹ استفاده گردید. همچنین جنس و گونه انگل پس از تهیه مقاطع بافتی از اندام‌های حیوانات مورد پژوهش با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه‌ای شناسایی گردید.

یافته‌ها: از مجموع نمونه‌های مورد بررسی لیشمانیا اینفانتوم در ۱۴ مورد (۹۳/۳٪) از بافت‌های کبد، طحال و اسمیرهای آن‌ها و لیشمانیا ماژور در ۱ نمونه (۶/۷٪) با روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه‌ای تشخیص داده شدند.

نتیجه گیری: نتایج مولکولی نشان داد که عامل اصلی لیشمانیوز احشایی در مخازن حیوانی (سگ) شهرستان بویراحمد لیشمانیا اینفانتوم می‌باشد. اما لیشمانیا ماژور نیز می‌تواند به عنوان یکی از عوامل ایجاد کننده لیشمانیوز احشایی در سگ وسگ سانان به شمار آید.

واژگان کلیدی: واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه‌ای، لیشمانیوز احشایی، سگ

دریافت مقاله: آذر ۸۸ پذیرش برای چاپ: اردیبهشت ۸۹

مقدمه

لیشمانیوزها گروهی از بیماری‌های انگلی هستند که در ۸۸ کشور جهان انتشار دارند. گونه‌های لیشمانیا باعث ایجاد سندرم‌های بالینی متفاوتی شده و توسط گونه‌هایی از پشه خاکی‌ها از افراد مبتلا، برخی گوشت خواران و جوندگان به افراد سالم انتقال می‌یابند. از نظر بالینی لیشمانیوزها به اشکال جلدی (سالک)، مخاطی ـ جلدی (اسپوندیا)، جلدی منتشره و کالا آزار خود را نشان می‌دهند. لیشمانیوز احشایی توسط گونه‌های مختلف کمپلکس لیشمانیا دونوانی (*Leishmania donovani* complex) ایجاد می‌گردد (۳-۱). اگر بیماری توسط لیشمانیا دونوانی (*Leishmania donovani*) ایجاد گردد نهایتاً ممکن است ۲۰-۱۰ درصد موارد به لیشمانیوز جلدی پس از

* آدرس برای مکاتبه: یاسوج، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج.
تلفن: ۰۹۱۷۷۴۱۱۷۰۲
پست الکترونیک: amoshfea@yahoo.com

کالاآزار (PKDL) ختم شود. تخمین زده می‌شود حدود ۱/۵ میلیون مورد جدید لیشمانیوز جلدی و نیم میلیون مورد لیشمانیوز احشایی در هر سال به وجود می‌آید. در بین گونه‌های لیشمانیا اختصاصیت زیادی در رابطه با شکل بالینی بیماری، میزبان، مخزن و گونه پشه خاکی ناقل انگل دیده می‌شود. از دیدگاه اپیدمیولوژی لیشمانیوز احشایی در صورتی که توسط لیشمانیا دونوانی ایجاد شود، یک بیماری منتقل شونده انسان (Anthroponosis) و در شرایطی که عامل آن لیشمانیا اینفانتوم (*Leishmania infantum*) باشد، یک بیماری مشترک بین انسان و حیوان (Zoonosis) به شمار می‌آید. از ۸۸ کشور دارای لیشمانیوز انسانی، در ۵۰ کشور لیشمانیوز سگ سانان گزارش شده است. بیشترین فراوانی در سه منطقه مهم از جمله چین، کشورهای حوزه مدیترانه و برزیل گزارش شده است (۴-۲). در ایران کانون‌های اصلی بیماری در استان‌های اردبیل، فارس، آذربایجان شرقی و بوشهر قرار دارند (۵). در شهرستان بویراحمد نیز بر اساس گزارش‌های موجود شیوع سرمی انگل در کودکان مطالعه شده ۳/۱٪ و در سگ‌های صاحب دار ۱۰٪ می‌باشد (۵ و ۶). این پژوهش با هدف جداسازی و تعیین جنس و گونه عامل مولد بیماری لیشمانیوز احشایی از نمونه های طحال و کبد سگ‌های آلوده و نیز گسترش‌های تماسی آن ها در شهرستان بویراحمد انجام شد.

مواد و روش‌ها

الف) نمونه‌گیری: این مطالعه توصیفی در سال ۱۳۸۹ با کالبدگشایی ۱۵ قلاده سگ و تهیه لام‌های تماسی از طحال و کبد آن‌ها انجام گرفت. سگ‌های مورد مطالعه دارای علایم بالینی لیشمانیوز احشایی شامل لاغری، ریزش مو، رشد غیرطبیعی ناخن‌ها، زخم جلدی، کوریورتینیت، عینکی شدن چشم‌ها و اختلال در راه رفتن، بودند. سگ‌های مورد مطالعه در این پژوهش از ۷ روستای شهرستان بویراحمد که در مطالعات قبلی (۶) شناسایی شده بودند، انتخاب گردیدند. پس از کسب رضایت از صاحب سگ، سگ‌ها مهار و به وسیله کتامین بیهوش شدند. پس از کالبد گشایی، از کبد و طحال لاشه‌ها لام‌های تماسی تهیه و قطعه‌ای از بافت این اندام‌ها نیز جهت جداسازی DNA انگل در الکل ۷۰ درصد قرار داده شد.

ب) استخراج *DNA* از بافت و اسمیرهای تماسی: در ابتدا یک گرم از هر کدام از بافت‌های طحال و کبد سگ برداشته و پس از مخلوط کردن به صورت همگن در آورده شدند. ۲۰۰ میکرولیتر محلول هضم‌کننده (Lysis buffer) و ۱۰ میکرولیتر پروتئیناز K با غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به بافت‌های همگن شده و نیز لام‌های تماسی اضافه و به مدت یک شب در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در مرحله بعد ۲۰۰ میکرولیتر محلول فنل، کلروفورم و ایزوآمیل الکل به مخلوط اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰rpm سانتریفیوژ شد. پس از جداسازی فاز رویی، دو تا سه برابر حجم محلول حاوی DNA، اتانل خالص سرد اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه تا یک شب در دمای ۲۰- درجه قرار داده شد. پس از مدت زمان ذکر شده نمونه مورد نظر به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰rpm سانتریفیوژ گردید. DNA رسوب کرده در دمای اتاق خشک و پس از حل شدن در آب مقطر استریل تا انجام PCR در یخچال نگهداری شدند (۷).

ج) تعیین جنس و گونه: گسترش‌های تماسی و نمونه‌های بافتی از نظر وجود DNAی انگل لیشمانیا با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه‌ای (Nested-PCR) و پرایمرهای اختصاصی مورد بررسی قرار گرفتند. تکثیر قطعه هدف در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲/۵ میکرولیتر PCR بافر 10X، ۱/۵ میلی‌مول $MgCl_2$، ۲۰۰ میکرومول dNTPs، ۰/۵ پیکومول از هر پرایمر و ۱/۲۵U آنزیم DNA پلی مراز *Taq* انجام شد. در اولین مرحله PCR از پرایمرهای XR CSB1 با توالی CGAGTAGCAGAAACTCCCGTTCA و CSB2XF با توالی ATTTTTCGCGATTTTCGCAGAACG استفاده گردید. در مرحله دوم PCR از پرایمرهای LiR با توالی TCGCAGAAGGCCCTT و 13Z با توالی ACTGGGGGTTGGTGTAAAATAG استفاده شد (۸). واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Corbett research) با شرایط دمایی ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و در ادامه ۳۰ چرخه شامل ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در دمای ۵۲ درجه سانتی گراد، ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در نهایت به مدت نامحدود در دمای ۴ درجه سانتی گراد انجام گرفت.

محصول نهایی PCR به ژل آگاروز ۱/۵ درصد منتقل و پس از الکتروفورز به‌وسیله دستگاه ترانس لومیناتور مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش علاوه بر مارکر، از نمونه استاندارد ترکیبی که دارای باندهای مشخص ۶۸۰ و ۵۶۰ جفت‌بازی (*L. major + L. infantum*) بودند نیز استفاده گردید. نمونه‌هایی که باند اصلی ۶۸۰ جفت بازی داشتند لیشمانیا اینفانتوم و نمونه‌هایی که دارای باند۵۶۰ جفت بازی بودند به عنوان لیشمانیا ماژور تشخیص داده شدند (۸) (شکل ۱).

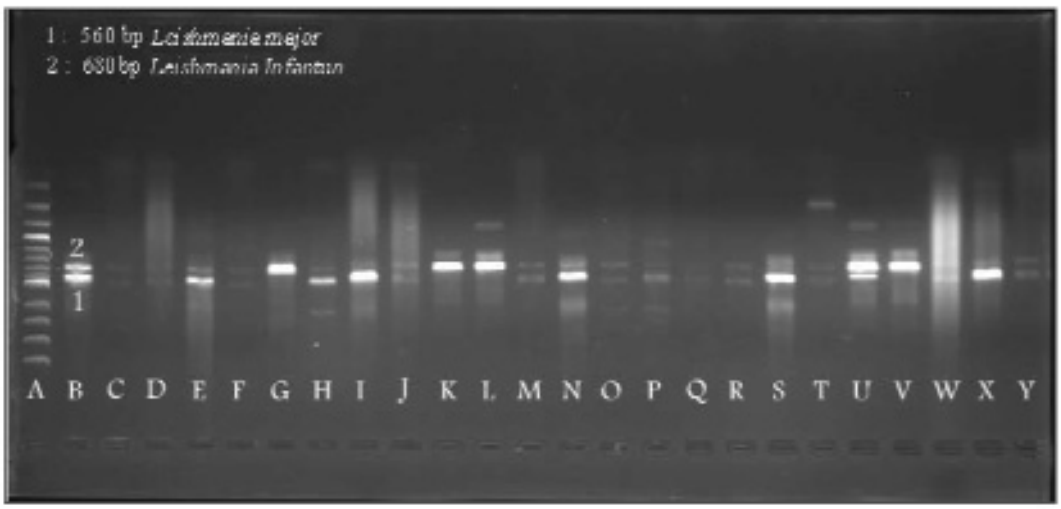
نتایج

در این مطالعه ۱۵ قلاده سگ دارای علایم بالینی لیشمانیوز احشایی از روستاهای پوله، دره سحر، زیرعنا، گنجگون، الله آباد، اشکفت سیاه و دیلگون انتخاب شدند. از نظر گروه سنی تمامی سگ‌های مورد بررسی در گروه سنی ۴-۳ سال قرار داشتند. از مجموع نمونه‌های مورد بررسی لیشمانیا اینفانتوم در ۱۴ مورد (۹۳/۳٪) و لیشمانیا ماژور در ۱ نمونه (۶/۷٪) از بافت‌های کبد، طحال و لام‌های تماسی آن‌ها با روش Nested-PCR تشخیص داده شدند (شکل ۱).

بحث

با توجه به این که مخازن لیشمانیوز احشایی در ایران سگ سانان می‌باشند، لذا تشخیص بیماری در این حیوانات و شناسایی سگ های آلوده در انجام برنامه‌های مبارزه و کنترل این بیماری در جامعه انسانی اهمیت فوق‌العاده‌ای دارد. به دلیل شیوع بیشتر بیماری در سگ سانان و دسترسی آسان‌تر به این مخازن و نیز امکان کالبد گشایی و برداشت نمونه‌های حاوی انگل از این حیوانات، این مطالعه با هدف بررسی وضعیت بیماری و شناسایی عامل آن بر روی این حیوانات انجام گرفت. در مطالعه حاضر در ۱۴ مورد از ۱۵ قلاده سگ مورد بررسی، عامل بیماری لیشمانیا اینفانتوم گزارش گردید. در مطالعه معتضدیان و همکاران که در بخش ماهور میلاتی شهرستان ممسنی، بر روی تمامی کودکان کم‌تر از ده سال و ۱۰ درصد از بالغین روستاهای بخش ماهورمیلاتی و ۲۰ درصد از سگ‌های صاحب‌دار منطقه انجام شد، عامل بیماری لیشمانیوز احشایی لیشمانیااینفانتوم اعلام گردید (۷).همچنین محبعلی و همکاران در استان بوشهر (۹) و سایر قسمت های ایران (۱۰) عامل بیماری لیشمانیوز احشایی را لیشمانیا اینفانتوم گزارش نمودند.

مشفع و همکاران در شهرستان مشکین شهر تمامی نمونه های گرفته شده از پوست و خون سگ های علایم‌دار و فاقد علایم بالینی (۷۱ قلاده سگ) با روش PCR، لیشمانیا اینفانتوم تشخیص دادند (۱۱ و ۱۲). محبعلی و همکاران به منظور بررسی نقش جوندگان به عنوان مخازن احتمالی لیشمانیوز احشایی در شهرستان مشکین شهر استان اردبیل، ۱۹۰ جونده از ۴ جنس و گونه



شکل ۱: تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR از نمونه های مختلف. A) مارکر ۱۰۰ جفت بازی، B) نمونه ترکیبی استاندارد: 1)، نمونه‌های *L.infantum* -M, O-Q, R-V,W C-H, J)، I) 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 که *L.major* تشخیص داده شد. 2) *L.infantum* (680bp) *L.major* (560bp)

مختلف را مورد بررسی قرار دادند. محققین یادشده در مطالعه‌ی میکروسکوپی گسترش‌های تماسی طحال و کبد جوندگان مورد بررسی در ۵۲ مورد (۲۷/۳٪) جسم لیشمن (یک مورد لیشمانیا اینفانتوم در هامستر طلایی و یک مورد لیشمانیا دونوانی در مریونس) مشاهده نمودند (۱۳). محبعلی و همکاران در سال‌های ۷۹-۱۳۷۷ در شهرستان‌های دشتی و دشتستان استان بوشهر، از ۱۴۹۶ نمونه مورد بررسی، ۹/۱٪ دارای تیتر مساوی و بالاتر از ۱ :۸۰۰ و ۳/۴٪ دارای تیتر مساوی و بالاتر از ۱ :۳۲۰۰ بودند. در مطالعه یاد شده، ۱۰۵ قلاده سگ، ۵ قلاده روباه، ۱۰ قلاده شغال و ۱۵۲ عدد جونده نیز بررسی شدند. در نهایت در ۳ قلاده سگ و ۱ قلاده شغال اجسام لیشمن مشاهده گردید که با استفاده از روش RAPD-PCR مشخص شد که همگی آن‌ها لیشمانیا اینفانتوم می‌باشند (۱۴). در مطالعه‌ای جامع توسط محبعلی و همکاران وضعیت آلودگی به لیشمانیا اینفانتوم در سگ‌های اهلی و سگ‌سانان وحشی در ایران بین سال‌های ۲۰۰۳-۱۹۹۹ مورد ارزیابی قرار گرفت. در مطالعه یادشده از روش سرولوژی DAT برای تعیین میزان آلودگی و از روش‌های انگل‌شناسی، مولکولی و بیوشیمیایی برای تعیین جنس و گونه‌ی انگل استفاده نمودند. از ۱۵۶۸ نمونه سرم تهیه شده از سگ‌های اهلی در نقاط مختلف ایران ۲۲۲ مورد (۱۴/۲٪) دارای آنتی‌بادی ضد لیشمانیا با عیار مساوی یا بیشتر از ۱ :۳۲۰ بودند.محققین یاد شده نشان دادند که ۱۰٪ از ۳۰ قلاده سگ وحشی مورد مطالعه به لیشمانیا اینفانتوم آلوده بودند. ۱۰ مورد از ۱۱ مورد لیشمانیاهای جدا شده از سگ‌ها و سگ‌سانان وحشی با روش‌های مولکولی و بیوشیمیایی لیشمانیا اینفانتوم و یک مورد لیشمانیا ترو پیکا (*Leishmania tropica*) تشخیص داده شدند (۱۵).

در پژوهش حاضر انگل لیشمانیا ماژور در یک نمونه مشاهده گردید. دلیل وجود این گونه در سگ‌ها می‌تواند به عنوان یک مخزن، اتفاقی باشد و یا این که انگل‌های موجود در این شهرستان و مناطق مشابه قابلیت انتقال به سگ سانان را داشته باشند که یافته‌ای جدید می‌باشد. به طور طبیعی لیشمانیا ماژور مولد لیشمانیوز جلدی نوع روستایی است و مخازن حیوانی آن در ایران موش‌های بزرگ صحرایی می‌باشند. اما ممکن است این نوع از انگل توانسته خود را در سگ‌ها نیز سازگار نماید و باعث نوع احشایی بیماری شود که در این صورت مساله شکل جدی‌تری به خود می‌گیرد و عوامل بیماری احشایی متنوع‌تر می‌شوند. در صورت اتفاقی بودن آلودگی یک قلاده سگ مورد بررسی، همانند گزارش لیشمانیا اینفانتوم از گربه توسط حاتم و همکاران در سال ۲۰۱۰ (۱۶) و گزارش آلودگی هامستر به لیشمانیا اینفانتوم توسط محبعلی و همکاران در سال ۱۹۹۸ (۱۳)، در برخی مناطق حیوانات غیرمخزن نیز آلوده می‌شوند. گروه سنی سگ‌های آلوده نشان دهنده این موضوع است که آلودگی در این مناطق تازه می‌باشد. بنابراین علت اصلی بیماری در شهرستان بویراحمد نیز این گونه می‌باشد و برنامه کنترل، مبارزه و درمان بیماری همانند سایر نقاط بوده و از الگوی یکسانی تبعیت می‌کند. شناسایی انگل مولد بیماری در روش‌های مولکولی بستگی به داشتن تک یاخته دارد. اما یکی از مشکلات این روش، کشت انگل در نمونه‌های حیوانی می باشد که با توجه به محیط‌های باز، احتمال آلودگی محیط کشت و عدم موفقیت زیاد است.از این رو در این مطالعه از نمونه‌های بافت طحال و کبد و همچنین لام‌های تماسی جهت جداسازی انگل لیشمانیا استفاده گردید. بهترین روش برای جداسازی این انگل کشت نمونه های طحال و کبد در محیط های کشت لیشمانیا است. اما این امر مشکلات متعددی از جمله آلودگی محیط های کشت به انواع میکروارگانیسم‌ها را به دنبال خواهد داشت. نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از لام‌های تماسی می‌تواند مشکل موجود در تهیه انگل بدون استفاده از محیط کشت را برطرف نماید.

نتیجه گیری

در مجموع با توجه به آلودگی قابل توجه سگ‌های صاحب‌دار شهرستان بویراحمد به لیشمانیا اینفانتوم، باید برنامه‌هایی از قبیل آموزش مردم منطقه در خصوص این بیماری و نحوه انتقال آن در دستور کار قرار گیرد. از طرفی در صورت مشاهده کودکان بیمار و یا سگ‌های دارای علایم، به مراکز بهداشتی و درمانی اطلاع رسانی انجام گیرد. در بررسی حاضر، با توجه به گزارش یک مورد لیشمانیا ماژور مطالعات تکمیلی دیگری در این زمینه باید انجام شود. به منظور اجرای دقیق برنامه کنترل بیماری، مطالعاتی نیز باید در جهت تعیین گونه پشه های خاکی ناقل این بیماری در استان

صورت گیرد. همچنین پیشنهاد می‌گردد در سایر شهرستان‌های استان نیز ویژگی بیماری لیشمانیوز تعیین گردد تا بتوان با برنامه‌ریزی دقیق این بیماری را کنترل نمود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از اساتید و همکاران گرامی به ویژه جناب آقای دکتر محمد کارگر، دکتر مهدی محبعلی، دکتر بهادر سرکاری، خانم بهناز آخوندی، آقای فریدون مؤمن به دلیل مشاوره علمی کمال امتنان را دارند.

References

1. Alvar J, Yactayo S, Bern C. Leishmaniasis and poverty. Trends parasitol. 2006; 22(12): 552-557.
2. Desjeux P. increasing risk factors for leishmaniasis Worldwide. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2001; 95(3): 239-243.
3. World Health Organization (WHO). http://www.who.int/ctd/chagas/disease.htm. 2007.
4. Alvar J, Molina R, San Andres M, Tesouro M, Nieto J, Vitutia M, Gonzalez F, San Andrés MD, Boggio J, Rodriguez F. Canine leishmaniasis: clinical, parasitological and entological follow-up after chemotherapy. Ann Trop Med Parasitol. 1994; 88(4): 371-378.
5. Mohebali M, Edrissian GH, Shirzadi MR, Akhoundi B, Hajjaran H, Zarei Z, Molaei S, Sharifi I, Mamishi S, Mahmoudvand H, Torabi V, Moshfe A, Malmasi A, Motazedian MH, Fakhar M. An observational study on the current distribution of visceral leishmaniasis in different geographical zones of Iran and implication to health policy. Travel Med Infect Dis. 2011; 9(2): 67-74.
6. Sarkari B, Pedram N, Mohebali M, Moshfe AA, Zargar MA, Akhoundi B, Shirzadi MR. Seroepidemiological study of visceral leishmaniasis in Booyerahmad district, south-west Islamic Republic of Iran. East Mediterr Health J. 2010; 16(11): 1133-1136.
7. Motazedian H, Karamian M, Noyes HA, Ardehali S. DNA extraction and amplification of *Leishmania* from archived, Giemsa-stained slides for the diagnosis 0f cutaneous leishmaniasis by PCR. Ann Trop Med Parasitol. 2002; 96(1): 31-34.
8. 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. Ann Trop Med Parasitol. 2003; 97(8): 811-816.
9. 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(6): 912-917.
10. 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. 2002; 15(4): 243-246.
11. Moshfe A, Zarei Z, Akhoundi B, Edrissian Gh, Kazemi B, Jamshidi Sh,Mahmoudi M, Bandehpour M.,Mohebali M. Comparsion between serology and PCR methods for the diagnosis of viseral Leishmaniasis. Armaghane-danesh. 2009; 14(2): 31-43. [In persian].
12. Moshfe A, Mohebali M, Edrissian GH, Zarei Z, Akhoundi B, Kazemi B, Jamshidi S, Mahmoodi M. Canine visceral leishmaniasis: Asymptomatic infected dogs as a source of *L. infantum* infection. Acta Trop. 2009; 112(2): 101-105.
13. Mohebali M, Poormohammadi B, Kanani A, Edrissian GhH, Anvari S. Rodents-Gerbillidae-Cricetidae-another animal host of visceral leishmaniasis in Meshkin-Shahr district, I.R. of Iran. East Mediterr Health J. 1998; 4(2): 376-78.
14. 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: 55-59.
15. Mohebali M, Hajjaran H, Hamzavi Y, Mobedi I, Arshi S, Zarei Z, Akhoundi B, Naeini KM, Avizeh R, Fakhar M. Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniosis in the Islamic Republic of Iran. Vet Parasitol. 2005; 129(3-4): 243-51.
16. Hatam GR, Adnani SJ, Asgari Q, Fallah E, Motazedian MH, Sadjjadi SM, Sarkari B. First report of natural infection in cats with *Leishmania infantum* in Iran. Vector Borne Zoonotic Dis. 2010; 10(3): 313-316.

Journal of Microbial World
Volume 3, No. 2, June 2010

Isolation of *Leishmania infantum* from Animal Reservoir (dog) of Boyer Ahmad Township by Nested PCR

Hossein Ansari[1], Abdolali Moshfe[2], Kavous Solhju[3], Pouya Khodadadi[1]

[1]M.Sc., Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran.
[2]Assistant Professor, Cellular & Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran
[3]Assistant professor, Faculty of Medicine, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran

Abstract
Background and Objective: The visceral leishmaniosis is a common disease between human and animal caused by *Leishmania infantum*. The main resource of this disease is canidae family. This study was conducted to determine the genus and species of the parasites that cause visceral leishmaniosis in Boyer Ahmad City.
Materials and Methods: In this study, the smears were prepared from spleen and liver extracts of 15 dogs in Boyerahmad city that were suspected to visceral leishmaniosis according to clinical signs (2010). Also some of the samples were evaluated by Nested-PCR to determine the geneus and species of the parasite.
Results: According to the smear observation and Nested-PCR results, 14 cases (93.3%) and one case (6.7%) of the samples have been detected as *Leishmania infantum* and *Leishmania major*, respectively.
Conclusion: The molecular results showed that the main etiological agent of visceral leishmaniosis in the animal reservoir (dogs) of BoyerAhmad Township is *Leishmania infantum*. However, *Leishmania major* also was detected as one of the causes of visceral leishmaniosisin in the region.
Keywords: Nested PCR, visceral leishmaniosis, dog.

Correspondence to: Abdolali Moshfe
Tel: +98 917 741 1702
E-mail: amoshfea@yahoo.com
Journal of Microbial World, 2010, 3(2): 117-122