

A Molecular Study on Visceral Leishmaniasis and Babesiosis in Domestic Dogs of Meshkinshahr, Ardabil Province

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Dalimi A.H.^{*1} MD,
Mohammadiha A.¹ MD,
Mohammadnajar M.¹ MD

How to cite this article

Dalimi A.H, Mohammadiha A, Mohammadnajar M. A Molecular Study on Visceral Leishmaniasis and Babesiosis in Domestic Dogs of Meshkinshahr, Ardabil Province. Pathobiology Research. 2019;22(2):91-95.

¹Parasitology & Entomology Department, Medical Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

*Correspondence

Address: Tarbiat Modares University, Nasr Bridge, Jalal-Al-Ahmad Highway, Tehran, Iran. Postal Code:1411713-116
Phone: +98 (21) 82883838
Fax: +98 (21) 82883568
dalimi_a@modares.ac.ir

Article History

Received: August 2, 2018
Accepted: March 9, 2019
ePublished: June 20, 2019

ABSTRACT

Aims Visceral leishmaniasis (VL) is one of the most important endemic diseases in Meshkinshahr. The present study was aimed to molecular detect of VL and babesiosis in clot blood samples taken from dogs.

Materials & Methods In this experimental study, a total number of 148 blood samples were collected from dogs with clinical signs of visceral leishmaniasis from Meshkinshahr area. All serum samples were examined by direct agglutination test (DAT). DNA was extracted from the blood clot with the DNG-plus Extraction Kit. The ITS1 and kDNA genes of *L. infantum* were amplified by the PCR method. To identify and confirm the existence of *Babesia* parasites, 2 pairs of *Babesia*-specific primers were used.

Results All of 148 dogs (100%) showed titers more than 1:320 of *L. infantum* infection in the serological test. *L. infantum* kDNA was detected by PCR in all samples. No cases of infection with *Babesia* parasite found in the samples.

Conclusions The dog owners in Meshkinshahr are in close contact with dogs which are positive for VL, so, the implementation of health care in this region is highly recommended.

Keywords Visceral Leishmaniasis ; Babesiosis; Domestic Dogs; Ardabil Province

CITATION LINKS

- [1] Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniasis in the Islamic Republic of Iran
- [2] An observational study on the current distribution of visceral leishmaniasis in different geographical zones of Iran and implication to health policy
- [3] Domestic dog ownership in Iran is a risk factor for human infection with *Leishmania infantum*
- [4] Study of Canine Visceral Leishmaniasis in Symptomatic and Asymptomatic Domestic Dogs in Meshkinshahr City, Iran
- [5] Application of a direct agglutination test for detection of specific anti-leishmania antibodies in the canine reservoir
- [6] Application of direct agglutination test (DAT) for the diagnosis and seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis in Iran
- [7] Genetic heterogeneity of ribosomal internal transcribed spacer in clinical samples of *Leishmania donovani* spotted on filter paper as revealed by single-strand conformation polymorphisms and sequencing
- [8] Quantification of *Leishmania infantum* DNA by a real-time PCR assay with high sensitivity
- [9] *Babesia canis canis*, *Babesia canis vogeli*, *Babesia canis rossi*: Differentiation of the three subspecies by a restriction fragment length polymorphism analysis on amplified small subunit ribosomal RNA genes
- [10] Characterization of visceral leishmaniasis in reservoir host (dogs) and determination of agent by PCR in Boyer-Ahmad District, Iran
- [11] Canine visceral leishmaniasis: Asymptomatic infected dogs as a source of *L.*
- [12] Study on Seroprevalence of Canine Visceral Leishmaniasis (CVL) in Ownership Dogs of Sarab, East Azerbaijan, Province, Northwest of Iran with Indirect Immuno Fluorescence Antibody Test (IFAT) and its Health Importance in 2008-2009
- [13] *Leishmania infantum* FML-ELISA for the detection of symptomatic and asymptomatic canine visceral leishmaniasis in an endemic area of Iran
- [14] Canine visceral leishmaniasis: Seroprevalence survey of asymptomatic dogs in an endemic area of northwestern Iran
- [15] *Babesia* infection in urban and rural dogs in Ahvaz district, southwest of Iran
- [16] A survey on *Babesia* infection in dogs of urban and rural regions of Tabriz city, Iran
- [17] infection in dogs from rural areas of Sao Paulo State, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet Jaboticabal
- [18] Epidemiological and vector identification studies on canine babesiosis
- [19] Epidemiological survey of canine babesiosis in Makurdi, Nigeria
- [20] Canine babesiosis in France
- [21] The factors affecting the distribution of babesiosis in dogs in Poland

بررسی مولکولی لیشمانیوز احشایی و بابزیوز در سگ‌های صاحب‌دار شهرستان مشکین‌شهر استان اردبیل

عبدالحسین دلیمی* MD

گروه انگل‌شناسی و حشره‌شناسی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

آینتا محمدیها MD

گروه انگل‌شناسی و حشره‌شناسی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

محمد محمدنجر MD

گروه انگل‌شناسی و حشره‌شناسی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

اهداف: لیشمانیای احشایی یکی از بیماری‌های اندمیک مهم در منطقه مشکین‌شهر به شمار می‌آید. هدف از این مطالعه تشخیص مولکولی آلودگی به انگل لیشمانیوز احشایی و بابزیوز در نمونه لخته خون سگ‌های منطقه مشکین‌شهر استان اردبیل بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۱۴۸ نمونه خون از سگ‌های دارای علائم بالینی لیشمانیوزیس احشایی از منطقه مشکین‌شهر جمع‌آوری شد. سرم همه نمونه‌ها با روش سرولوژی DAT مورد آزمایش قرار گرفت. از لخته خون نیز، DNA انگل با استفاده از کیت DNG-plus استخراج شد. ژن‌های *ITS1* و *kDNA* (لیشمانیا / اینفانتوم با استفاده از روش PCR تکثیر شدند. همچنین برای شناسایی و تایید وجود انگل بابزیا از دو جفت پرایمر اختصاصی جنس بابزیا استفاده شد.

یافته‌ها: از لحاظ آزمایش سرولوژی، تمام ۱۴۸ نمونه سرم سگ‌ها با عیار مرزی و بالاتر از ۱:۳۲۰ مثبت شدند. تمامی نمونه‌ها از لحاظ مولکولی مثبت و گونه لیشمانیا / اینفانتوم تعیین شد. هیچ موردی از آلودگی به انگل جنس بابزیا در نمونه‌های مورد مطالعه یافت نشد.

نتیجه‌گیری: به علت ابتلا سگ‌های مشکین‌شهر به لیشمانیای احشایی، صاحبان سگ‌ها در این منطقه به دلیل داشتن ارتباط بسیار نزدیک با سگ باید نسبت به رعایت نکات بهداشتی دقت کافی داشته باشند.

کلیدواژه‌ها: لیشمانیوز احشایی، بابزیوز، سگ‌های صاحب‌دار، شهرستان مشکین‌شهر

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱۸

*نویسنده مسئول: dalimi_a@modares.ac.ir

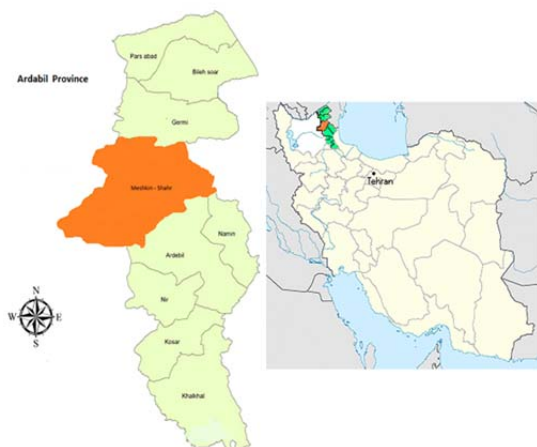
مقدمه

لیشمانیوزیس یک بیماری انگلی است که توسط تک‌یاخته‌ای به نام لیشمانیا ایجاد می‌شود و به سه شکل جلدی، جلدی-مخاطی و احشایی دیده می‌شود. نوع جلدی-مخاطی در ایران شایع نیست ولی نوع احشایی بیماری یا کالاآزار در برخی مناطق ایران به‌صورت اسپوردایک و در مناطق مشکین‌شهر، دشت مغان، کلیبر، برازجان، خورموج، فیروزآباد و جهرم به‌صورت آندمیک دیده می‌شود^[1].

لیشمانیوز احشایی به‌صورت تب‌بیک ولی نه منحصرأ توسط مجموعه لیشمانیا دونوانی (*Leishmania donovani*) ایجاد می‌شود. عامل اصلی بیماری کالاآزار در منطقه حوزه وسیع مدیترانه، لیشمانیا اینفانتوم است. کالاآزار اغلب در کودکان و بیشتر در روستائیان دیده می‌شود تا زمانی که لیشمانیوز احشایی از طریق ازبین‌بردن مخازن حیوانی، سم‌پاشی و مبارزه با ناقلین، آموزش بهداشت و ایمن‌سازی انسان و سگ به‌عنوان منبع عفونت، تحت کنترل قرار نگیرد، تشخیص به موقع و درمان به موقع بیماری، عامل مهمی در کاهش مرگ‌ومیر مبتلایان خواهد بود^[2].

کانون اصلی بیماری در استان اردبیل شهرستان‌های مشکین‌شهر و

مغان است (شکل ۱). از سال ۱۳۷۶ به بعد مواردی از بیماری از سایر مناطق استان، از جمله شهرستان اردبیل گزارش شده است. طبق نتایج مطالعه‌های انجام‌شده در ایران، سگ‌ها به‌ویژه سگ‌های صاحب‌دار به‌عنوان مخزن اصلی بیماری شناخته شده‌اند. اولین نشانه لیشمانیوز احشایی در سگ‌ها لاغری و غیرفعال‌شدن، کم‌شدن موها به‌خصوص در اطراف چشم‌ها، ضایعات پوسته‌دار، زخم، کشیده‌شدن پنجه‌ها و ترشحات چرکی پنجه‌ها است^[3, 4].



شکل ۱) منطقه جغرافیایی از محدوده مشکین‌شهر در شمال غرب ایران جایی که نمونه‌های خون جمع‌آوری شده است.

بابزیوز سگ‌سانان، یک بیماری زئونوز مهم در سرتاسر دنیا به شمار می‌رود که با نام‌های پیروپلاسماوز، تب صفراوی در سگ‌ها نیز شناخته می‌شود بیماری‌های بابزیوز که توسط گونه‌های متفاوت جنس بابزیا انتقال می‌یابد در گروه وسیعی از مهره‌داران به‌خصوص نشخوارکنندگان از جمله گوسفند، سگ‌سانان و حتی انسان شایع است. اولین مورد آلودگی انسان در سال ۱۹۵۷ در یوگسلاوی تشخیص داده شد. بیشترین گزارش ابتلای انسان به بابزیا مربوط به گونه بابزیا میکروتی (*B. microti*) است. سایر گونه‌های زئونوز که انسان را آلوده می‌کنند شامل بابزیا / کوئی (*B. equi*) و بابزیا کابالی (*B. cabali*) در اسب، بابزیا / اویس (*B. ovis*) در گوسفند، بابزیا دایورجنس (*B. divergens*) در گاو می‌شود^[5]. اخیراً گونه‌ای بسیار شبیه بابزیا جیپسونی در ۴ مورد از افرادی که طحال‌برداری کرده بودند گزارش شده است. اکثر موارد گزارش‌شده از اروپا ناشی از بابزیا دایورجنس و از آمریکا بابزیا میکروتی بوده است^[6]. هدف از مطالعه حاضر، تشخیص وضعیت عفونت ناشی از لیشمانیوز احشایی و بابزیوز در سگ‌های صاحب‌دار روستایی منطقه مشکین‌شهر، شمال غرب ایران بوده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: در این مطالعه توصیفی-مقطعی از ۱۴۸ قلاده سگ از روستای مختلف شهرستان مشکین‌شهر در تابستان سال ۱۳۸۹ نمونه خون گرفته شد (شکل ۱). سگ‌ها همگی دارای علائم بالینی لیشمانیوز احشایی از قبیل (موریختگی، لاغری، کم‌خونی، بزرگی غدد لنفاوی، تب، اسپلنومگالی، علائم چشی، رشد و شکل غیرطبیعی ناخن) بوده، ابتدا سگ‌ها رو مقید کرده و مقدار ۲۰ میلی‌لیتر خون از ورید سفالیک آنها تهیه شد. سرم‌های خون‌های گرفته‌شده به‌وسیله سانتریفیوژ جدا و سرم و لخته‌ها در ظروف مخصوص به‌صورت جداگانه نگهداری شدند.

متحدہ آمریکا)، مراحل تکثیر ژن‌ها به شرح زیر انجام شد: برای ژن‌های ITS1 و *kDNA* لیشمانیا/اینفانتوم مرحله اول فرآیند واسرشت با دمای 95°C به مدت ۵ دقیقه شروع شد در ادامه برای هر دو ژن ۲۰ سیکل به صورت واسرشت 95°C به مدت ۴۰ ثانیه، فرآیند اتصال پرایمر برای ژن *ITS1* لیشمانیا/اینفانتوم 54°C ، برای ژن *kDNA* لیشمانیا/اینفانتوم 65°C ، طولیل شدن در 72°C به مدت ۶۰ ثانیه و مرحله طولیل شدن نهایی در 72°C به مدت ۵ دقیقه انجام شد [7,8].

برای ژن *SsrDNA* جنس بابریا شرایط انجام واکنش شامل واسرشت اولیه 94°C به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل شامل واسرشت 94°C به مدت ۴۰ ثانیه، اتصال پرایمر 63°C به مدت ۴۵ ثانیه و طولیل شدن 72°C به مدت ۴۰ ثانیه و همچنین طولیل شدن نهایی در 72°C به مدت ۵ دقیقه انجام شد [9].

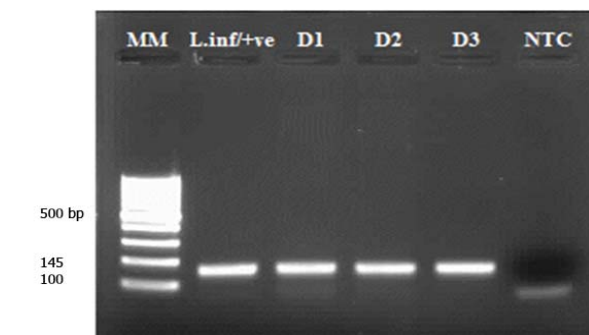
برای ژن *18S rRNA* پیروپلاسمائیده شرایط انجام واکنش شامل واسرشت اولیه 94°C به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۰ سیکل شامل واسرشت 94°C به مدت یک دقیقه، 55°C به مدت یک دقیقه و طولیل شدن 72°C به مدت یک دقیقه و همچنین طولیل شدن نهایی در 72°C به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت [9].

در انتها محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵٪ بارگذاری شد. پس از اتمام مقدار ۶ میکرولیتر از محصول PCR توسط ژل آگاروز ۱٪ آغشته به ۵۰ میکرولیتر سیف‌استین (سیناکلون؛ ایران) الکتروفورز شده، سپس زیر نور UV کوتاه عکس‌برداری و اندازه محصول PCR با مارکر DNA تجاری (سیناکلون؛ ایران) ارزیابی شد.

یافته‌ها

از نظر سنی سگ‌های مورد بررسی در گروه سنی بین ۳ تا ۸ سال قرار داشتند و نسبت سگ‌های نر و ماده مساوی بود. در روش سرولوژیکی DAT، تمامی ۱۴۸ قلاده سگ تیترا آنتی‌بادی بالاتر از ۱:۳۲۰ داشتند.

در روش PCR هم ۱۴۸ نمونه‌ها/لیشمانیا/اینفانتوم تشخیص داده شدند (شکل‌های ۲ و ۳). بدین ترتیب که طبق شکل ۲، با الکتروفورز محصول PCR ژن *kDNA* (باند ۱۴۵ جفت‌بازی و طبق شکل ۳ با الکتروفورز محصول PCR ژن *ITS1* باند ۳۶۰ جفت‌بازی هر دو مربوط به لیشمانیا/اینفانتوم از نمونه‌های لخته خون سگ از میان ۱۴۸ قلاده سگ حاصل شد. در آزمایش PCR مربوط به ژن‌های *18S rRNA* و *SsrDNA* انگل بابریا، هیچ باندی مشاهده نشد.



شکل ۲) الکتروفورز محصول PCR ژن *kDNA* (ک) از لیشمانیا/اینفانتوم در نمونه‌های لخته خون سگ؛ MM: مارکر ۱۰۰ جفت‌بازی، Linf/+ve: نمونه کنترل مثبت، نمونه‌های D (D1، D2 و D3): نمونه‌های لخته خون سگ، NTC: کنترل منفی

آزمایش سرمی DAT: سرم‌ها با استفاده از روش سرولوژیکی تست آگلوتیناسیون مستقیم (DAT) از نظر وجود آنتی‌بادی ضدلیشمانیا تعیین تیترا شدند. آنتی‌ژن آگلوتیناسیون مستقیم از آزمایشگاه لیشمانیوز گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران که براساس روش هریت و همکاران تهیه شده بود، تهیه شد [5].

ابتدا رقت‌های مختلف از سرم سگ‌ها را تهیه کرده، و پس از افزودن آنتی‌ژن به رقت‌های ۱:۸۰، ۱:۱۶۰ و ۱:۳۲۰ سرمی میکروپلیت‌ها را درون اتاقک مرطوب قرار داده و در یک سطح افقی در دمای اتاق تا روز بعد (حداقل ۱۸ 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 تکه کوچک آبی‌رنگ با حاشیه کاملاً جمع شده و در وسط حفره میکروپلیت ته‌نشین شده بودند، عدم آگلوتیناسیون تلقی شده و نتیجه آزمایش از نظر آنتی‌بادی ضدلیشمانیا منفی به حساب می‌آمد و اگر انگل‌ها به صورت کلوئیدی ابری شکل آبی‌رنگ یکنواخت در تمام مایه موجود در حفره پراکنده شده یا در اصطلاح آگلوتینه شده بودند، نتیجه آزمایش از نظر آنتی‌بادی ضدلیشمانیا مثبت محسوب می‌شد. بالاترین رقت از نمونه سرمی که آگلوتیناسیون در آن ایجاد شده به عنوان حداکثر عیار، پذیرفته می‌شود. در این روش برای نمونه‌های حیوانی، آنتی‌بادی ضدلیشمانیا با عیارهای ۱:۳۲۰ و بالاتر به عنوان عفونت لیشمانیوز احشایی و عیارهای پایین‌تر از ۱:۳۲۰ منفی در نظر گرفته شدند [6].

مطالعه مولکولی: نمونه‌های لخته خون با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) از نظر وجود انگل لیشمانیا و بابریا با استفاده از پرایمرهای اختصاصی مورد بررسی قرار گرفتند.

استخراج DNA: برای جداسازی DNA کیت DNG-plus (سیناکلون؛ ایران) به کار رفت و پرایمرها در روش مولکولی مطالعه فوق از پرایمرهای اختصاصی طبق جدول ۱ استفاده شدند.

جدول ۱) جدول مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در PCR این مطالعه

ژن ماخذ	اندازه توالی (جفت‌باز)	توالی	نام پرایمر
<i>ITS 1</i>	۳۲۰-۳۶۰ (قبل از هضم آنزیمی)	LITSR: 5'-CTGGATCATTTTCCGATG-3'	[7]L
		L5.8S: 5'-TGATACCACCTTATCGCACTT-3'	
<i>(k)DNA</i>	۱۴۵	RV1: 5'-CTTTTCTGGTCTCCGGTAGG-3'	[8]RV
		RV2: 5'-CCACCCGGCCCTATTTTACACCA-3'	
<i>18S rRNA</i>	۴۰۸	PIRO-A 5'-AATACCAATCCTGACACAGGG-3'	[9]PIRO
		PIRO-B 5'-TTAAATACGAATGCCCCAAC-3'	
<i>SsrDNA</i>	150	Bab-F 5'-CTTTCAGCGATGGATGTCTTGG-3'	[9]Bab
		Bab-R 5'-ACTGAGATGGGAGTACCACG-3'	
		این پرایمر برای جنس بابریا اختصاصی است.	

شرایط PCR: آزمایش PCR با استفاده از مسترمیکس (سیناکلون؛ ایران) صورت گرفت. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر به صورت ۵ میکرولیتر از DNA الگو، ۲ میکرولیتر (۲۰ پیکومول) از پرایمرهای رفت و برگشت، ۸ میکرولیتر مسترمیکس و ۵ میکرولیتر آب انجام شد. با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (بیورد؛ ایالات

سگ‌های مورد مطالعه از نظر تیتراژ آنتی‌بادی ضد لیشمانیا مثبت نشان دادند [14].

بازیوز یکی از مهم‌ترین انگل‌های تک‌یاخته‌ای در پزشکی و دامپزشکی است. گونه‌های مختلفی از بازیوز توسط کتله‌های ایکسودیده به طیف وسیعی از حیوانات اهلی و وحشی و انسان انتقال می‌یابند. بازیوز کنییس از جمله انگل‌های مشترک بین انسان و سگ محسوب می‌شود. با توجه به گزارش بازیوز کنییس در برخی نقاط ایران، در این مطالعه آلودگی سگ‌های مشکین‌شهر به این انگل مورد بررسی قرار گرفت. گرچه در مطالعه حاضر آلودگی سگ‌ها به بازیوز مشاهده نشد ولی در مناطق دیگری مانند تبریز و اهواز این آلودگی گزارش شده است. در مطالعه جلالی و همکاران وضعیت آلودگی به بازیوز در سگ‌های شهری و روستایی در جنوب غرب ایران، شهرستان اهواز بررسی شده است. در این مطالعه ۲۰۰ قلابه سگ روستایی از ۵ روستای اطراف اهواز و ۲۰۰ قلابه سگ شهری ارجاعی به بیمارستان دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، از نظر حضور گونه‌های بازیوز بررسی شده بودند. در میان ۴۰۰ قلابه سگ، ۱۵ نمونه (۳/۷۵٪) آلوده به بازیوز کنییس بودند. این مطالعه نشان داد که از ۲۰۰ قلابه سگ روستایی، ۱۱ نمونه (۵/۵٪) و از ۲۰۰ قلابه سگ شهری، ۴ نمونه (۲٪) از نظر بازیوز کنییس مثبت بودند [15]. در مطالعه حسین‌زاده در تبریز از ۱۲۱ قلابه سگ به‌صورت تصادفی نمونه خون تهیه شد. به روش میکروسکوپی گسترش‌های نازک خون محیطی و به روش مولکولی با تکثیر قطعه به طول ۱۶ جفت‌باز از توالی ژن *18S rDNA* آلودگی سگ‌ها به بازیوز بررسی شد. اگرچه استفاده از روش معمول میکروسکوپی در این مطالعه فراوانی آلودگی بازیوزی را ۶/۶٪ نشان داد ولی در بررسی مولکولی ۲۲ (۱۸/۲٪) نمونه از همه مناطق آلوده بودند. بیشترین میزان آلودگی در سگ‌های تجاری (۲۸/۶٪)، نر (۱۹/۲٪) کمتر از دو سال (۲۱/۱٪) بود [16].

در جهان نیز آلودگی سگ‌ها به بازیوز به وفور گزارش شده است از جمله این گزارش‌ها می‌توان به گزارش‌های بشیر و همکاران در پاکستان، اودویر و همکاران در برزیل، اومودو و همکاران در نیجریه، بوردوئیسو و همکاران در فرانسه و آداسرکا و همکاران در لهستان در سال‌های اخیر اشاره کرد [17-21].

نتیجه‌گیری

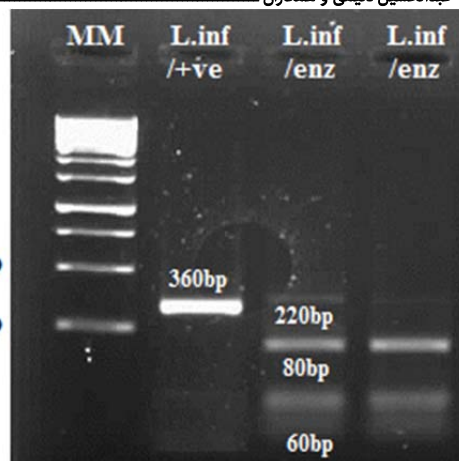
با توجه به آلودگی قابل توجه سگ‌های صاحب‌دار شهرستان مشکین‌شهر به لیشمانیا / اینفانتوم برنامه‌هایی از قبیل آموزش مردم منطقه در خصوص این بیماری و نحوه انتقال آن جدی‌تر اجرا شود. از طرفی صاحبان سگ‌ها در این منطقه به‌دلیل داشتن ارتباط بسیار نزدیک با سگ باید نسبت به رعایت نکات بهداشتی دقت کافی داشته باشند.

تشکر و قدردانی: نویسندگان از اعضای محترم گروه انگل‌شناسی به‌ویژه خانم دکتر غفاری‌فر، دکتر پیرستانی و آقای دکتر صدرایی نهایت تشکر و قدردانی را دارند.

تأییدیه اخلاقی: خونگیری با رضایت کامل صاحبان سگ‌ها و رعایت کلیه جنبه‌های اخلاقی مورد تأکید کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه تربیت مدرس صورت گرفته است.

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافع وجود ندارد.

سهم نویسندگان: عبدالحسین دلیمی (نویسنده اول)،



شکل ۳) الکتروفورز محصول PCR ژن *ITS1* از لیشمانیا / اینفانتوم در نمونه‌های لخته خون کامل سگ: از چپ به راست: مارکر ۲۵۰ جفت‌بازی، L.inf+ve: نمونه مثبت، L.inf/enz: نمونه‌های مثبت برش داده شده با آنزیم Hae III

بحث

هدف از مطالعه حاضر بررسی وضعیت آلودگی به انگل لیشمانیوز احشایی و بازیوز در مخازن حیوانی (سگ) شهرستان مشکین‌شهر و تعیین نوع انگل با روش PCR بود. با توجه به این که مخازن لیشمانیوز احشایی در ایران سگ‌سانان هستند، بنابراین تشخیص بیماری در این حیوانات و شناسایی سگ‌های آلوده در انجام برنامه مبارزه و کنترل این بیماری در جامعه انسانی اهمیت ویژه‌ای دارد. همچنین به خاطر شیوع بیشتر بیماری در سگ‌سانان و دسترسی آسان‌تر به این مخازن مطالعه‌های مورد بررسی وضعیت بیماری و شناسایی عامل روی این حیوانات انجام شد. اگرچه میزان شیوع عفونت ناشی از انگل بازیوز صفر بود اما نقش سگ‌ها در انتشار بازیوز کنییس به بررسی بیشتری نیاز دارد.

در مطالعه حاضر در ۱۴۸ قلابه سگ مورد بررسی عامل بیماری لیشمانیا / اینفانتوم تشخیص داده شد. در مطالعه‌های انجام‌شده به‌وسیله انصاری و همکاران در شهرستان بویراحمد در روش سرولوژی از ۱۵ قلابه سگ ۱۴ قلابه دارای تیتراژ آنتی‌بادی مثبت و در نمونه‌های بافت طحال، کبد و گسترش‌های تماسی با استفاده از روش PCR از ۱۵ قلابه سگ مورد مطالعه، در ۱۴ قلابه لیشمانیا / اینفانتوم تشخیص داده شد [10]. مشفق و همکاران در شهرستان مشکین‌شهر تمامی نمونه‌های گرفته‌شده از پوست و خون سگ‌های علایم‌دار و فاقد علایم بالینی (۷۱ قلابه سگ) با روش PCR لیشمانیا / اینفانتوم تشخیص داده شدند [11]. در مطالعه مولایی و همکاران در مشکین‌شهر، از ۲۴ قلابه سگ‌های دارای علایم بالینی، ۲۰ مورد (۸۳/۳٪) و از ۸۶ قلابه سگ فاقد علایم ۱۶ مورد (۱۸/۶٪) با آزمایش DAT مثبت بودند. نتایج اسمیر و کشت در ۱۰۰٪ سگ‌های دارای علایم بالینی و ۶۰٪ سگ‌های فاقد علایم بالینی، مثبت بود [14]. در مطالعه خان‌محمدی و همکاران روی سگ‌های خانگی در شهرستان سراب از استان آذربایجان شرقی ۸/۵٪ سگ‌ها سرم مثبت نشان دادند [12].

در سال ۲۰۱۱ محمدی قلعه‌بین و همکاران سگ‌های علایم‌دار و فاقد علایم را در شهرستان مشکین‌شهر بررسی کردند. در این مطالعه ۶۰ قلابه با تست آگلوتیناسیون مستقیم بررسی شدند که ۳/۳٪ سگ‌ها مثبت نشان دادند [13]. در سال ۲۰۱۳ براتی و همکاران میزان لیشمانیازیس احشایی را در سگ‌های خانگی در شهرستان مشکین‌شهر بررسی کردند. در این مطالعه ۳۳/۳٪ از

polymorphism analysis on amplified small subunit ribosomal RNA genes. *J Eukaryot Microbiol.* 1999;46(3):298-303.

10- Ansari H, Moshfe AA, Solhjoo K, Khodadadi P, Kalantari M, Afshoon E, et al. Characterization of visceral leishmaniasis in reservoir host (dogs) and determination of agent by PCR in Boyer-Ahmad District, Iran. *Armaghane-danesh.* 2012;16(6):537-44. [Persian]

11- Moshfe AA, Mohebal 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 Trop.* 2009;112(2):101-5.

12- Khanmohammadi M, Fallah E, Rahbari S, Sohrabi I, Farshchian M, Hamzavi F, et al. Study on Seroprevalence of Canine Visceral Leishmaniasis (CVL) in Ownership Dogs of Sarab, East Azerbaijan, Province, Northwest of Iran with Indirect Immuno Fluorescence Antibody Test (IFAT) and its Health Importance in 2008-2009. *J Anim Vet Adv.* 2010;9(1):139-43.

13- Mohammadi-Ghalehbin B, Hatam GhR, Sarkari B, Mohebal M, Zarei Z, Jaberipour M, et al. Leishmania infantum FML-ELISA for the detection of symptomatic and asymptomatic canine visceral leishmaniasis in an endemic area of Iran. *Iran J Immunol.* 2011;8(4):244-25.

14- Barati M, Mohebal M, Alimohammadian MH, Khamesipour A, Akhoundi B, Zarei Z. Canine visceral leishmaniasis: Seroprevalence survey of asymptomatic dogs in an endemic area of northwestern Iran. *J Parasit Dis.* 2015;39(2):221-4.

15- Alborzi AR, Avizeh R, Mosallanejad B, Razi Jalali MH, Hamidi Nejat H, Taghipour R. Babesia infection in urban and rural dogs in Ahvaz district, southwest of Iran. *Arch Razi Inst.* 2013;68(1):37-42.

16- Hosseinzadeh Varjoy M, Ashrafi Helan, J, Salehi N, Bazmani A, Nematollahi A, Imani Baran A. A survey on Babesia infection in dogs of urban and rural regions of Tabriz city, Iran. *Vet J.* 2015;29(2): 56-63

17- O'Dwyer LH, Lopes VVA, Rubini AS, Paduan KDS, Ribolla PEM. Babesia spp. infection in dogs from rural areas of Sao Paulo State, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet J.* 2009;18(2):23-6.

18- Bashir NI, Chaudhry ZI, Ahmed S, Saeed MA. Epidemiological and vector identification studies on canine babesiosis. *Pak Vet J.* 2009;29(2):51-4.

19- Omudu EA, Bernard O, Ayashar JG. Epidemiological survey of canine babesiosis in Makurdi, Nigeria. *Anim Res Inter.* 2007;4(3):745-9.

20- Bourdoiseau G. Canine babesiosis in France. *Vet Parasitol.* 2006;138(1-2):118-25.

21- Adaszeka L, Martinez AC, Winiarczyk S. The factors affecting the distribution of babesiosis in dogs in Poland. *Vet Parasitol.* 2011;181(2-4):160-5.

روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۴۰٪): آیتا محمدیها (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/روش‌شناس/پژوهشگر اصلی (۴۰٪): محمد محمدنجر (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی (۲۰٪)
منابع مالی: کلیه هزینه‌های مالی مطالعه حاضر توسط دانشگاه تربیت مدرس تامین شده است.

منابع

- 1- Mohebal M, Hajjaran H, Hamzavi Y, Mobedi I, Arshi S, Zarei Z, et al. Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniasis in the Islamic Republic of Iran. *Vet Parasitol.* 2005;129(3-4):243-51.
- 2- Mohebal 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 Med Infect Dis.* 2011;9(2):67-74.
- 3- Gavvani AS, Mohite H, Edrissian GH, Mohebal 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.
- 4- Molaei S, Dalimi A, Mohebal M, Zarei Z, Mohammadi-Ghalehbin B, Akhondi B, Azarm A. Study of Canine Visceral Leishmaniasis in Symptomatic and Asymptomatic Domestic Dogs in Meshkinshahr City, Iran. *J Ardabil Univ Med Sci.* 2016;16(1):105-15. [Persian]
- 5- Harith A, Salappendel RJ, Reiter I, Knapen F, Korte P, Huigen E, et al. Application of a direct agglutination test for detection of specific anti-leishmania antibodies in the canine reservoir. *J Clin Microbiol.* 1998;27(10):2252-7.
- 6- Mohebal 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(1):15-25.
- 7- El Tai N, Osman OF, El Fari M, Presber W, Schöniat G. Genetic heterogeneity of ribosomal internal transcribed spacer in clinical samples of *Leishmania donovani* spotted on filter paper as revealed by single-strand conformation polymorphisms and sequencing. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2000;94(5):575-9.
- 8- Mary C, Faraut F, Lascombe L, Dumon H. Quantification of *Leishmania infantum* DNA by a real-time PCR assay with high sensitivity. *J Clin Microbiol.* 2004;42(11):5249-55.
- 9- Carret C, Walas F, Carcy B, Grande N, Précigout E, Moubri K, et al. *Babesia canis canis*, *Babesia canis vogeli*, *Babesia canis rossi*: Differentiation of the three subspecies by a restriction fragment length