ResearchGate

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: https://www.researchgate.net/publication/322643625

د ا رسة انتشار داء المشمانيا الجمدية بين النازحين في محافظة الديوانية وتشخيص طفيمي Leishmania.major باستخدام تقنية بممرة الحامض النووي PCR

Article · January 2018

CITATIONS
0

READS
11

1 author:

Assel A. Saeed
University of Al-Qadisiyah

9 PUBLICATIONS **0** CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:

Project كتب علمية متنوعة View project

Project Molecular detection of Leishmania major in human View project

All content following this page was uploaded by Assel A. Saeed on 03 March 2018.

The user has requested enhancement of the downloaded file.

دراسة انتشار داء اللشمانيا الجلدية بين النازحين في محافظة الديوانية وتشخيص طفيلي *Leishmania.major* باستخدام تقنية بلمرة الحامض النووي PCR

أصيل عبد الرضا سعيد*، صفاء رسن عبد الله** وصبا فلاح كليف*

*كلية الطب البيطري/ جامعة القادسية

**كلية التمريض/ جامعة القادسية

الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة إجراء مسح وبائي لحالات الإصابة باللشمانيا الجلدية بين النازحين في كل من مركز مدينة الديوانية، والشامية، والدغارة، وعفك، والسنية، والحمزة الشرقي، والشافعية وال بدير وللمدة من أيلول 2014 ولغاية نيسان 2015. حيث سجلت هذه الدراسة تشخيص 21 عزلة من اصل 62 عينة من اللشمانيا الجلدية من طفيلي major *Leishmanial* ان ارتفاع الكثافة السكانية في المحافظة قد لعب دورا هام في ارتفاع نسبة الإصابات باللشمانيا الجلدية نتيجة لحركة تنقل السكان وهجرتهم لعدم الاستقرار السياسي الذي شهده القطر مؤخرا وأظهرت النتائج تشخيص حوالي 62 إصابة باللشمانيا الجلدية cutaneous leishmaniasis وبنسبة 1.58% من مجموع النازحين 4007 فرد وشملت الدراسة بعض أقضية المحافظة حيث كانت اعلى نسبة إصابة في قضاء الحمزة الشرقي وعفك حيث بلغت (29، 19.4)% على التوالي وسجلت اعلى نسبة للإصابة مرتفع خلال شهري كانون الثاني وشباط 2015 (17.74، 25.81)% على التوالي وكانت نسبة الإصابة بين الأطفال دون سن 15 من العمر هي الأعلى حيث بلغت 46.5% في حين انخفضت نسب الإصابة مع تقدم العمر، ومن خلال استخدام تقنية PCR باستخدام عوامل الضراوة LPG1 وUDP بينت النتائج ان 21 عينة من اصل 62 عينة هي *Leishmania major* وبنسبة 87 .33%.

الكلمات المفتاحية: prevalence، اللشمانيا الجلدية، عوامل الضراوة، PCR.

e-mail: Assel78.saeed@gmail.com

Epidemiological prevalence of cutaneous Leishmaniasis In immigration people in Al-Qadissyia province

A. A. Seaad*, S. R. Abdulah and S. F. Kelef***

***College of Veterinary Medicine/ University of Al-Qadissiya**

****College of Nursing/ University of Al-Qadissiya**

Abstract

This study were conducted an epidemiological survey of prevalence cutaneous leishmaniasis in immigration people in Al-Diwaniyah city center, included shamiaa, Dagharah, Afak Sannia, eastern Hamzah, and al boddier in the period from September 2014 until April 2015 the results showed that the high population density in the province has played a role in the high rate of infected as a result of to population movements and migration of political instability, which recently witnessed diameter and Results showed diagnosed about 62 with percentage (1.58%) from 4007 individual infection cases by *leishmania cutaneous*. The study included some of the districts of the province where she was the highest in the district of the eastern Hamzah, and Afak by (29, 19.4)% respectively, it was noted that the highest prevalence of cases where it a through monthly January and February 2015 (17.74, 25.81)% respectively recorded infection rate among children under the age of 15at ratio 46.5% while infected rates declined with age progress. For the diagnosis and determine the type of parasite the results showed by PCR technique that 21 out of 62 sample is *Leishmania major*, with percentage 33.78%.

Keywords: cutaneous leishmaniasis, lesions, prevalence, virulence factor

المقدمة

تعد داء اللشمانيا الجلدي من الأمراض المتوطنة في العراق والبلدان المجاورة مثل سوريا، الأردن، تركيا، إيران، والمملكة العربية السعودية (1). وتقدر منظمة الصحة العالمية أن 1.5 مليون حالة من حالات اللشمانيا الجلدية في العالم تحدث بسبب *L.major* و*L.tropica* علما ان كلا النوعين يسبب داء اللشمانيا الجلدية في العراق، وان هذا المرض متوطن في العراق وخاصة في المناطق الريفية وشبه الحضرية (2). وفي محافظة القادسية التي هي جزء من العراق ومثل باقي المحافظات لوحظ انتشار هذا المرض وظهور بؤر له في العديد من المناطق التابعة للمحافظة (3) المسبب للمرض طفيلي *leishmania major* ,*leishmania topica* وهي طفيليات ابتدائية أحادية الخلية وذات دورات حياة متشابهة تقريبا (4) وتنتقل هذه المسببات المرضية بواسطة عضات إناث ذباب الرمل sand fly العائد لجنس *Lutzomyia* spp. في بلدان أمريكا اللاتينية وجنس *Phlebotomus* spp. في أفريقيا واسيا وأروبا (5). ومن الصعب تحديد عدد حالات الإصابة بالليشمانيا الجلدية وذلك لعدم مراجعة اغلب تلك الحالات إلى المراكز الصحية نتيجة للشفاء الذاتي لها، بعد شهرين إلى ستة أشهر وتترك مناعة دائمية ضد تكرار الإصابة وتستغرق الإصابة بالليشمانيا الجلدية وقتا طويلا لشفائها الذاتي تاركة أثراً أو ندبا وراءها ذات حجم مقارب لحجم القرحة الأصلية تقريبا والتي قد تكون غير مرغوبة من ناحية جمالية ولاسيما إذا كانت الإصابة على الأجزاء المكشوفة من الجسم. وللتحري عن جنس اللشمانيا ونوعه استخدمت طريقة(Kinetoplastids kDNA PCR DNA) (6) باستعمال جينات أو عوامل الضراوة LPG1 و UDP وهي من المحددات البروتينية السطحية التي تسهل عملية دخول الطفيلي إلى داخل الخلايا البلعمية والتي تبدأ عندما يصبح الشكل أمامي السوط Promastigote بتماس مع غشاء الخلية، إذ يحدث ترابط يعتمد عليه حيث يتفاعل مع مستقبلات الخلايا البلعمية ويدخل بعدها الطفيلي إلى الخلية البلعمية بعملية البلعمة ويشق طريقه إلى داخل جسم المضيف(7).

المواد وطرق العمل

تم جمع اكثر من 90 عينه من الحالات المشكوك بكونها اللشمانيا الجلدية في مستشفى الديوانية التعليمي وللمدة من أيلول 2014 ولغاية نيسان 2015 تم خلالها جمع المعلومات من المرضى المصابين بالليشمانيا الجلدية، حيث شملت المعلومات المسجلة وفق، ورقة استبيان يتضمن الإجابة على ما يأتي: الجنس، العمر، تاريخ ظهور الإصابة، المنطقة، وجود إصابات أخرى بين العائلة أو العوائل في التجمع نفسه ونوع الإصابة المشخصة، موقعها في الجسم تم تشخيص الطفيلي وذلك باتباع الطرق الآتية: حيث أخذت العينات بمقدار 1-2 ملليتر من القرح الجلدية للمرضى المصابين في أنابيب خاصة لكلا الجنسين لمختلف الأعمار ومكان الإصابة وتاريخ الإصابة:

- **التشخيص المختبري Laboratory diagnosis**
- **التشخيص المجهري المباشر للطفيلي:** تم استخدام الطريقة المباشرة من خلال عمل مسحات دم رقيقة Thin blood film إذ أستخدمت طريقة (8). تم تثبيت وصبغت المسحات المحضرة باستخدام صبغة كمزا Geimsa stain للتأكد من وجود الطفيلي ورؤية الطور عديم السوط. بحسب طريقة (9).
- **تشخيص الطفيلي باستخدام الأوساط الزرعية وتم الحصول على العينات بأحد الطريقتين الآتيتين:**
- عمل خزع نسيجية من حافة الآفات النشطة والتي تسحق مع كمية من محلول لوك المحضر والمعقم مختبريا وفي ظروف معقمة (8).

- جمع سائل الآفة وفقا لطريقة (9). جمعت العينات في ظروف معقمة في وسط زرعي شبه صلب وبدرجة 26-28 م ولمدة 4-6 أيام وفحصت عن طريق اخذ قطرة أو خزعة من الوسط ووضعها على شريحة زجاجية نظيفة ثم غطيت بغطاء الشريحة وفحصت على القوة 40 X للبحث عن الطفيلي وفق طريقة (8).
- **الطرق الجزيئية Molecular methods:**
- **التشخيص باستخدام عوامل الضراوة بتقنية PCR:** لتشخيص وتحديد نوع الطفيلي باستخدام عوامل الضراوةUDP glucose pyrophosphorylase و beta LPG1 galactofuranosyl transferas وبتضاعف على التوالي260pb, 551pb وقد تم تصميم هذه البادئات باستخدام قاعدة بيانات بنك الجينات NCBI كما هو موضح في جدول (1) والمجهزة من شركة (Bioneer, Korea) بطريقة (10) وتم حقن 1سي سي من Normal salin داخل القرحة من المصابين ومن ثم سحب السائل مرة أخرى للحصول على الطفيليات وذلك من حافة القرحة ووضع السائل في أنابيب بلاستيكية وحفظت في المجمدة بدرجة 20- C^0لغرض إجراء فحص الـPCR (11). تم استخلاص المادة الوراثية DNA extraction من عينات المرضى المصابين وذلك باستعمال Korea AccuPrep® Genomic DNA Extraction Kit وذلك حسب تعليمات الشركة المصنعة، أجريت طريقة PCR . باستعمال 25 Micro tubes مايكرولتر وحسب التعليمات المرفقة مع عدة الفحص تم إضافة المواد التالية. Forward primer 1µl 0.1-1.0µM, Go Taq Green Master Mix 12.5µl 1X) Reverse primer 1µl 0.1-1.0µM و DNA 5µl 50 ng و Nuclease-Free Water 19.5µl) وبعد إكمال الإضافات طردت العينات مركزيا باستعمال جهاز .USA-0211- scientific Fisher نقلت العينات إلى جهاز Cycler-Thermal-sprint PCR USA-IP20- وضبط البرنامج بعد دورات تراوحت 35-45 كلاتي (Preincubation 94ºC 5 min و Denaturation 94ºC 1 min و Annealing 48ºC 80sec و Extended 72ºC 1 min و Extra incubation 72ºC 10 min). تم الكشف عن نواتج PCRباستخدام الترحيل الكهربائي electrophoresis بتحضير هلام الاكاروز بتركيز 2% باستعمال صبغة اثيديوم بروميد 5.0 كروغرام/ مل bromide Ethidi .

جدول (1) **بادئات *Lieshmania major* المستعملة في الدراسة مع تسلسلها النيوكلوتيدي (تفاعل PCR)**

Primer	Sequence		Size
LPG1	F	AAAGAGTCAATGGGGACCGC	264
	R	CTCTCTGTTTCTGGCTGCCT	
UDP	F	ACCCCCTAATCCCGCTATCC	551
	R	TTGGGCACCTGATTCTGCAT	

النتائج والمناقشة

بلغ اعداد النازحين والمهجرين من المحافظات التي تشهد عمليات عسكرية الى محافظة الديوانية والاقضية والنواحي التابعة لها منذ 1/1/ 2014 وحسب إحصائية دائرة الهجرة والمهجرين في المحافظة 4007 نسمة موزعة حسب جدول (2). سجل كل من أقضية الحمزة الشرقي وعفك والديوانية اعلى نسبة للإصابة إذ بلغت (29، 19.4، 16.1)% على التوالي، اما باقي الأقضية الأخرى (الدغارة والسنية والشنافية وال بدير والشامية) فأخذت 25.7% من نسب الإصابات المسجلة، كما في جدول (3) لوحظ ان ارتفاع الكثافة السكانية في المحافظة قد لعب دورا في ارتفاع نسبة الاصابات نتيجة لتحركات السكان وهجرتهم لعدم الاستقرار السياسي الذي

شهده القطر مؤخرا، حيث اكدت (12) تأثير حركة السكان والهجرة على ازدي نسب الإصابات بالليشمانيا الجلدية والاحشائية وربما حتى انتشارها بشكل وبائي.

جدول (2) احصائية دائرة الهجرة والمهجرين في محافظة القادسية

قطاعات المحافظة	اعداد النازحين
الديوانية	1861
الشامية	292
عفك	480
الدغارة	250
السنية	287
ال بدير	254
الحمزة الشرقي	313
الشنافية	270
المجموع	4007

جدول (3) توزيع الإصابات على مناطق المحافظة ونسبها المئوية خلال مدة الدراسة من مجموع إصابات

قطاعات المحافظة	عدد الاصابات	النسبة المئوية
الديوانية	10	16.1
الحمزة الشرقي	18	29
الشامية	7	11.3
عفك	12	19.4
الشنافية	2	3.22
السنية	4	6.4
الدغارة	6	9.7
ال بدير	4	6.4

ولعل السبب راجع إلى تدني المستوى الصحي لتجمعات النازحين والظروف البيئية السيئة التي يعيشونها عدم الاهتمام بالنظافة العامة فضلا عن داخل المناطق السكنية وإهمال مكافحة الحيوانات السائبة ولاسيما الكلاب والقطط وعدم مكافحة القوارض الموجودة في المناطق الريفية أو بالقرب منها توفر مصادر دائمة للطفيلي، كما قد يلعب ارتفاع الكثافة السكانية في التجمع الواحد دورا في ارتفاع نسبة الإصابات نتيجة. ويوضح جدول (4) ارتباط ظهور الإصابات وانتشارها خلال فترة الدراسة بانخفاض درجات الحرارة إذ شهد كانون الثاني وشباط من العام 2015 تسجيل اعلى نسبة للإصابة إذ بلغت 43.55% مقارنة ببقية الأشهر الأخرى، والتي تناقصت في شهر نيسان من العام 2015. وهذه النتائج تتفق مع ما وجده (3، 13) من حيث الاختلافات في التوزيع الشهري للمصابين باللشمانيا الجلدية حيث قد تكون ذات صلة بنشاط ذباب الرمل المتصل بالظروف المناخية في فترة الدراسة من درجة حرارة ورطوبة، وتطور الحشرة الأنثى التي تحتاج الدم أثناء دورة حياتها للنضوج وتطور البيض لاستكمال دورة حياتها وخاصة في الربيع في فصل الصيف والأشهر الحارة بالتزامن مع نشاط الحشرة الناقلة وكثافتها وبعد مدة حضانة تعتمد على نوع الطفيلي واستجابة المضيف تبدا الأعراض بالظهور مع بداية موسم البرد.

جدول (4) التوزيع الشهري للإصابات ونسبها المئوية خلال مدة الدراسة

الشهر والسنة	عدد الاصابات	النسبة المئوية
ايلول	2	3.22
تشرين الاول	5	8.06
تشرين الثاني	7	11.29
كانون الاول	7	11.29
كانون الثاني	11	17.74
شباط	16	25.81
اذار	9	14.51
نيسان	5	8.06
المجموع	62	100

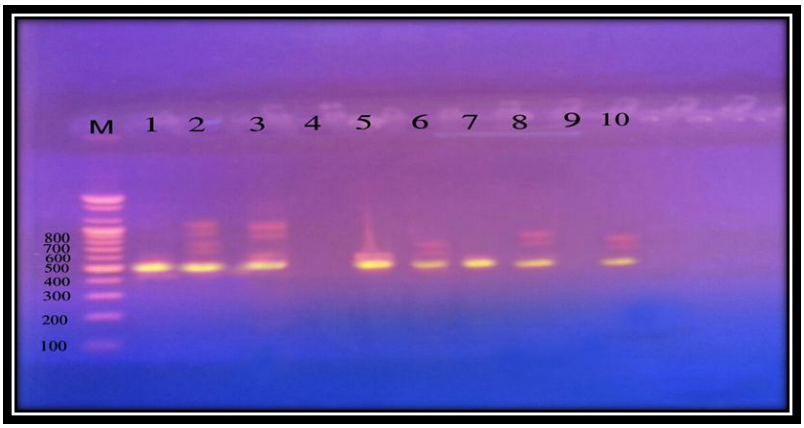
انتشرت الإصابات ضمن مدى واسع من الفئات العمرية إذ تراوحت أعمار المصابين ما بين سنة وخمس سنوات وبمعدل 11.2%، كما هو موضح في جدول (5)، ولكن شكل الأطفال دون سن 15 من العمر نسبة كبيرة من المصابين حيث بلغت 46.5% وهذا على وفق نمط الإصابة في المناطق المستوطنة بالمرض في المناطق المستوطنة به وذلك حسب تقرير (14). أما نسبة الإصابة المسجلة في الأعمار من 15 سنة فما فوق فشكلت 33% وهذا ربما يرجع إلى تطور نوع من المناعة الجيدة عند معظم الناس بتقدم العمر ونتيجة لتعرضهم لجرعات واطئة من الطفيلي المنقول بواسطة ذبابة الرمل أو غيرها من النواقل المحتملة في المنطقة المستوطنة بالمرض. كما توزعت الإصابات بحسب الجنس بنسب 54.7% للذكور و45.3% للإناث ومن دون فروق معنوية، وهذا حسب ما أشار إليه (16) إذ إن المرض يصيب الرجال والنساء على حد سواء وفي جميع الأعمار سواء البالغين أو الأطفال.

جدول (5) توزيع الإصابات حسب الفئات العمرية

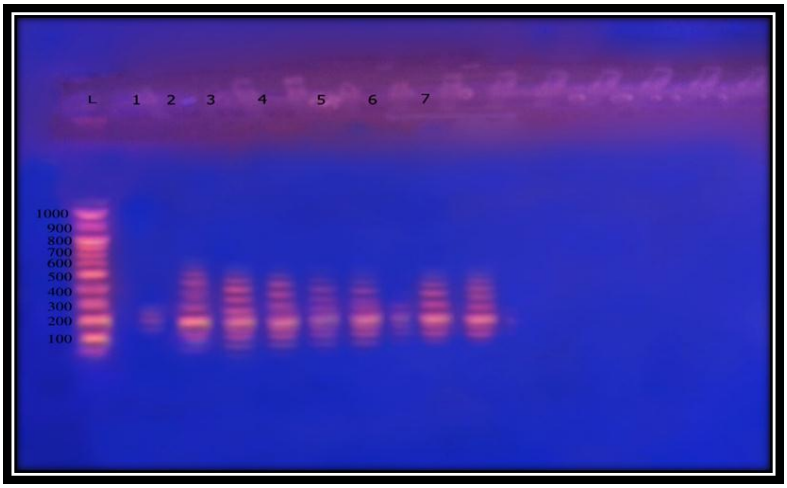
الفئات العمرية	عدد الإصابات	النسبة المئوية
سنة – خمس سنوات	7	11.2
من عشر سنوات – 15 سنة	29	46.77
15 سنة– 20 سنة	17	27.4
اكثر من 25 سنة	9	14.5
المجموع	62	100

ونتيجة لكون الدراسة كانت مصحوبة بتدفق اعداد كبيرة من النازحين من مختلف المحافظات الساخنة لقد لوحظ ارتفاع في أعداد الآفات ويعزى ذلك الى تطور سلالة جديدة للطفيلي في المحافظة، إذ ان طفيليات اللشمانيا تنتشر بسرعة في اي منطقة جديدة تدخلها وتتطور الى سلالات جديدة ذات فوعة، وكما أشار (13) إن هناك زيادة في أعداد المرضى المصابين بالليشمانيا الجلدية ولاسيما في حالة عودة الوافدين من المناطق الموبوءة بالمرض. كما لوحظ خلال فترة الدراسة وفرة المضائف الخازنة المصابة في مناطق تجمعات النازحين خصوصا في المناطق الريفية أو بالقرب منها، حيث يساعد وجود الآفات المكشوفة والمرتفعة في تلك الحيوانات المصابة ان تكون أهدافا سهلة لذباب الرمل المتغذية على دمائها، التي ستصبح معدية للإنسان ولباقي الفقريات بعد 4–18 يوما من تغذيتها على وجبة الدم المصابة اعتمادا على نوع الطفيل مثلما أشار (15) فضلا عما توفره الأماكن المزدحمة من أماكن مثلى لتكاثر الحشرة الناقلة فالفضلات والازبال ووفرة المواد العضوية وعدم الاهتمام بوسائل النظافة البيئية والشخصية عوامل تؤدي الى ارتفاع كثافة الحشرة الناقلة فضلا عن كون الحشرات ضعيفة الطيران ولا تبتعد كثيرا

عن مناطق تكاثرها الاصلية، وهذا يؤدي كله الى تقارب حلقات الانتقال وبالتالي سعة انتشار المرض حتى ضمن العائلة الواحدة. قد دفعت الحاجة لاستخدام طرق تشخيصية أكثر حساسية لتشخيص داء اللشمانيا الجلدية بشكل صحيح إلى تطوير تقنيات التشخيص المعتمدة على DNA، ومنشأ الحركة والتي هي عضيه فريدة من نوعها لـKinetoplastids، تحتوي على ما يقرب 10.000 DNAs الدائري الصغير، تعرف باسم الحمض النووي لمنشأ الحركة KDNA التي تتراوح ما اكثر من 800 bp (قاعدة نتروجينية) في أعضاء جنس *Lesihmania* جعلت وفرة العدد وغيرها من الخصائص لهذه الجزيئات هدفاً لعدد من التقنيات المعتمدة على PCR (17). ولتشخيص وتحديد نوع الطفيلي أظهرت نتائج تقنية PCR conventional باستخدام عوامل الضراوة UDP glucose pyrophosphorylase وbeta galactofuranosyl transferase LPG1 , 21 من اصل 62 عينة هي *Leishmania major* وبنسبة 33.78% وذلك عند ترحيلها كهربائيا على هلام الاكاروز وتم فحصها تحت الأشعة فوق البنفسجية UV. Light كما في الشكلين (1، 2). أما بالنسبة للعينات المتبقية يعتقد أنها *L.tropica* وهذا يتفق مع ما وجده (18) في القادسية بان جميع العينات الموجبة كانت *L.major*، بينما وجد (19) بعد فحص العينات باستخدام تقنية PCR في الكوفة ان 90% من العينات كانت موجبة وان نسبة *L .major* منها 51% بينما كانت نسبة *L .tropica* 49%. كما اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه (20) في إيران. النتائج اثبتت ان PCR طريقة حساسة ودقيقة للكشف والتفريق بين أنواع اللشمانيا الجلدية لذلك نوصى باستخدامها في المستشفيات ومراكز البحوث.



صورة (1) نتيجة الترحيل الكهربائي لعينات DNA المستخلصة على هلام الاكاروز مع صبغة (بروميد الاثيديوم) حيث توضح حزم الحامض النووي DNA الخاص بعامل الضراوة UDP\ 551 بتقنية Conventional PCR



صورة (2) نتيجة الترحيل الكهربائي لعينات DNA المستخلصة على هلام الاكاروز مع صبغة (بروميد الاثيديوم) حيث توضح حزم الحامض النووي DNA الخاص بعامل الضراوة LPG1\246 pb بتقنيةConventional PCR

المصادر

1. World Health Organization WHO (1984). The Leishmaniasis. Report of WHO Expert Committee Tech. Rep. Ser. No. 701. Geneva, Switzerland. P.179.
2. Center for Disease Control and Prevention (CDC) (2003). Cutaneous leishmaniasis in U.S. Military-personal. South West Central Asia, 2002-2003. MMWR. Mortal. Wkly. Rep., 52: 1009-1012.
3. Zeibig Elizabeth A. (1997). Clinical Parasitology a Practical Approac Printed in the U.S.A. P. 320.
4. WHO.(1997). Leishmaniasis. In: Tropical Disease Report. 15th Program Report. 100-111, Who, Genera.
5. John, D. T. & Petri, W. A. (2006). Markell and Voge's Medical Parasitology. 9th Ed. Saunders Elsevier. New York. PP. 127-133.
6. Schonian, G.; Akuffo, H.; Lewin, S.; Maasho, K.; Nylen, S.; Pratlong, F.; Eisenberger, C. L.; Schnur, L. F. & Presber, W. (2000). Genetic variability within the species Leishmania aethiopica does not correlate with clinical variations of cutaneous leishmaniasis. Mol. Biochem. Parasitol., 106: 239-248.
7. Gillespie, S. & Pearson, R. (2001). Principles and Practice of Clinical Parasitology. John Wiley & Sons Ltd., PP: 287-309.
8. Adam, K. M. G.; Paul, J. & Zaman, V. (1979). Medical and Veterinary Protozoology. An Illustrated Guide. Churchill Livingstone Edinburg, London. P:173.
9. Rassi, Y.; Gassemi, M.; Javadian, E.; Rafizadeh, S.; Motazedian, H. & Doost, H. (2007). Vectors and reservoirs of cutaneous leishmaniasis in Marvdasht district southern Islamic Republic of Iran. Eas. Med. H.J.,12: 274-295.
10. Karamian, M.; Motazedian, M. H.; Fakhar, M.; Pakshir, K.; Jowkar, F. & Re-zanezhad, H. (2008). A typical presentation of Old-World cutaneous leish-maniasis, diagnosis and species identification by PCR. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol., 22(8):958-962.
11. Evans, D. A. (1978). Kinetoplastidae, in Methods of Cultivating Parasites in Vitro. Academic Press, London. PP:55-88.
12. WHO. (2003). New Therapy for "Black Fever" is 95% Effective. Saudi Med. J.,24: 117-118.
13. Sadick, N. S. (1997). Cutaneous manifestations of protozoal infections dermatological clinics. Infect. Dis. Dermatol., 15(2):291-293.
14. World Health Organization WHO (2002). Gulf syndrome (bug) is found parasite in Leishmaniasis tropica. Report of a WHO Export Committee. Tech. Rep. Series.
15. Sahib, S. R. (2014). Prevalence of Cutaneous Leishmaniasis in Al-Qadissia province and the evaluation of treatment response by pentostam with RT PCR, A Thesis, College of Education/ University of Al-Qadisiya.
16. El-Safi, S. H. & Peters, W. (1991). Studies on the Leishmaniasis in the Sudan. Epidemic of Cutanous leishmaniasis in Khartoum. Trans. R. Sco.
17. Rodriguez, N.; Guzman, B.; Rodas, A.; Takiff, H.; Bloom, B. & Convit, J. (1994). Diagnosis of cutaneous leishmaniasis and species determination of parasites by PCR and hybridization. J. Clin. Microbiol., (9)32: 2246-2252.
18. Abdullah, M.; Mushriq, K. & Tural, Y. (2009). Identification of Leishmania parasites in clinical samples obtained from cutaneous leishmaniasis patients using PCR technique in Iraq. Iraqi J. Sci., 50(1): 32-36.
19. Al-Hucheimi, S. (2005). A Study and comparative study of some methods used for diagnosis of cutaneous leishmania. MSc. Thesis, College of Medicine, University of Kufa, Iraq.
20. Mirzaei, M. & Sharifi, I. (2011). A new focus of anthroponotic cutaneous leishmaniasis and identification of parasite species by nested PCR in Jiroft, Iran. Comp. Clin. Pathol., 21 (5): 1071- 1075.

View publication stats