دراسة تشخيصية ووبائية لداء الليشمانيا الاحشائية Visceral Leishmaniasis باستعمال تقنية PCR في محافظة ذي قار

* د. فاضل عباس منشد العبادي ** د. خالد مجيد داخل الركابي
*** زينب عبد علي محمد
*،*** قسم علوم الحياة / كلية التربية /جامعة ذي قار ** المعهد التقني / الناصرية

الخلاصة Summary

أجريت الدراسة الحالية على داء الليشمانيا الاحشائية من الناحيتين التشخيصية والوبائية وشملت الدراسة ١٥٨ شخصاً مشكوكاً بإصابتهم بداء الليشمانيا الاحشائية في محافظة ذي قار.

تضمنت الدراسة إصابة ١٤٣ شخصاً من أصل ١٥٨ شخصاً، ووجد إن أعلى نسبة إصابة ضمن الفئة العمرية (7 – 12) شهرا(41.96 %) واقل نسبة إصابة ضمن الفئة العمرية (0 – 6 شهرا(9.09 %) ، كما وجد إن أعلى نسبة إصابة كانت في شهر شباط (15.38 %) واقل نسبة إصابة في شهر تموز(2.8 %) .

كانت أعلى نسبة إصابة في الشطرة وبنسبة 18.88 % واقل نسبة في البطحاء (0.7 %) وأنَّ معظم المصابين يعانون من قلة نسبة خضاب الدم وانخفاض في تعداد كريات الدم البيض وأنَّ أعلى نسبة إصابة كانت بين حاملي فصلية A(34.27 %) واقل نسبة إصابة بين حاملي فصيلة AB(7.69 %).

استعملت تقنية PCR في فحص ١٠٠ عينة سريرية مكونة من ١٠ عينات نخاع عظم كانت ايجابية وبنسبة ١٠٠ % و٤٥ عينة دم كانت 42 عينة ايجابية(93.33 %) و٤٥ عينة مصل كانت منها ٤١ عينة ايجابية(91.11 %).

بينت الدراسة الحالية ان تقنية PCR من أفضل طرق التشخيص المستعملة في تشخيص داء الليشمانيا الاحشائية من ناحية الدقة والحساسية العالية مقارنة مع طرق التشخيص الأخرى.

المقدمة Introduction

يشير مصطلح Leishmaniasis إلى مجموعة من الأمراض ذات الانتشار العالمي التي تسببها طفيليات وحيدة الخلية تنتمي إلى السوطيات الدموية Haemoflagellate تتطفل إجباريا داخل الخلايا Intracellular وتعود إلى جنس *Leishmania* عائلة Trypanosomatidae رتبة Kinetoplastida (WHO,1984).

تعد محافظة ذي قار من أكثر المحافظات من حيث عدد الإصابات المسجلة إذ بلغ عدد الإصابات حوالي 1076 إصابة من مجموع 16036 إصابة في عموم القطر للفترة بين 1992-2002 (إحصائية وزارة الصحة /١٩٩٢-٢٠٠٣) .

تم مؤخرا تطوير تقنية PCR للكشف عن DNA طفيلي الليشمانيا في مختلف العينات السريرية مثل الأنسجة المستأصلة من الجلد ومسحات الجلد إضافة إلى راشف نخاع العظم والعقد اللمفية كما يمكن استعمال عينات الدم أو المصل (Lachaud *et al.*,2002 & Fissore *et al.*,2004) .

تعتمد تقنية PCR على التضاعف الإنزيمي لتسلسل محدد من DNA طفيلي الليشمانيا والذي يصبح مرئيا بعد الترحيل الكهربائي في حقل جيلا تيني ، أنَّ حساسية PCR عالية

جدا وتصل إلى إمكانية الكشف عن وجود طفيلي واحد فقط (Rodgers *et al.*,1990) .

تتضمن هذه التقنية استعمال بادئات قراءة Primers قليلة النيوكليوتيدات مؤلفة نموذجيا من ٢٠ جزء ترتبط بصورة دقيقة وتحيط نموذجيا بالمنطقة المهمة (المستهدفة) ثم يضاعف هذا التسلسل المستهدف باستعمال إنزيم DNA polymerase المعزول من *Thermus aquatic* (Saiki *et al.*,1988) .

إنَّ هذه التقنية تتصف بالحساسية العالية التي تصل إلى ١٠٠% باستعمال راشف نخاع العظم (Martin-Sanchez *et al.*,2004) وأشار Nuzum *et al.*(1995) إلى أنَّ نسبة حساسية تقنية PCR باستعمال عينات الدم ٩٠ % وكانت حساسية هذه التقنية باستعمال عينات المصل ٩٧% وبخصوصية ٩٥% إذ كانت هنالك ٣٢ عينة ايجابية من أصل ٣٣ (Fissore *et al.*,2004) .

المواد وطرائق العمل Materials & methods

شملت الدراسة ١٥٨ طفلا مشكوكا بإصابتهم بالحمى السوداء (الليشمانيا الاحشائية) من المراجعين لمستشفى الولادة والأطفال في محافظة ذي قار ابتداءً من شهر تموز ٢٠٠٦ إلى شهر حزيران ٢٠٠٧ وتم جمع المعلومات والمتغيرات عنهم إضافة إلى قياس نسبة خضاب الدم وعد كريات الدم البيض حسب طريقة (Coles,1986) إضافة إلى تحديد فصيلة الدم للمصابين باستعمال العدة الخاصة للفحص (Bio test , USA).

جمعت ١٠٠ عينة سريرية مؤلفة من ١٠ عينات نخاع عظم و ٤٥ عينة دم و٤٥ عينة مصل من الأطفال المشمولين بالدراسة وفحصت بتقنية PCR وحسب الأتي:

- استخلاص الحامض النووي DNA Extraction

استعملت طريقة (Sambrook *et al.*,1989) في استخلاص DNA من العينات السريرية.

- الترحيل الكهربائي قبل الـPCR

استعملت طريقة (Sambrook *et al.*,1989) وتضمنت الأتي:

◊ مرحلة تحضير الاكاروز Preparation of Agarose gel

◊ مرحلة صب الاكاروز Casting of Agarose gel

◊ مرحلة الإضافات Loading and running DNA in Agarose gel

تفاعل PCR باستعمال بادئات القراءة حسب (Rodgers et al.,1990) .

Primers	Primer sequences	Length	Tm	Ta
13A	5'- GTG GGG GAG GGG CGT TCT -3'	١٨	62ºc	57ºc
13B	5'- ATT TTC CAC CAA CCC CCA GTT -3'	٢١	62ºc	57ºc

وتضمن خليط التفاعل المواد الآتية:

Component	Volume	Final concentration
Go Taq Green Master Mix	12.5µl	1X
Primer 13A	1µl	0.1-1.0µM
Primer 13B	1µl	0.1-1.0µM
DNA	5µl	>250ng
Nuclease-Free Water	19.5µl	
Total	25µl	

وضبط برنامج عمل جهاز PCR وكالاتي:

Steps	Temperature	Time	Number of cycles
Preincubation	94ºc	5 Min	١
Denaturation	94ºc	1 Min	٣٠
Annealing	59ºc	1 Min	
Extended	72ºc	1 Min	
Extraincubation	72ºc	3 Min	١

- الترحيل الكهربائي بعد الـPCR

استعملت طريقة (Sambrook *et al.*,1989) وتضمنت الأتي:

◊ مرحلة تحضير الاكاروز Preparation of Agarose gel

◊ مرحلة صب الاكاروز Casting of Agarose gel

◊ مرحلة الإضافات Loading and running DNA in Agarose gel

- النتيجة الموجبة : وجود DNA الطفيلي بحجم 120 bp مقارنة مع DNA ladder.
- التحليل الإحصائي:

استعمل في الدراسة الحالية اختبار توزيع T test واختبار مربع كاي (X^2) Chi-Square باستعمال البرنامج الإحصائي SPSS ،(الراوي،١٩٨٤).

النتائج Result

لوحظ من توزيع الإصابات حسب المدة الزمنية من شهر تموز ٢٠٠٦ إلى شهر حزيران ٢٠٠٧ وجود فروق معنوية 0.05 ≥ P لنسب الإصابة حسب الأشهر إذ وجد أنَّ أعلى نسبة للإصابات كانت في شهر شباط وبنسبة 15.38 % بينما كانت اقل نسبة للإصابات في شهر تموز وبنسبة 2.8 % (جدول ، 1).

جدول (١) نسبة الإصابة بداء الليشمانيا الاحشائية حسب أشهر السنة والجنس والفئة العمرية

الأشهر	العمر (بالأشهر)												المجموع	النسبة المئوية %
	6 - 0		12 - 7		18 -13		24 - 19		> 24					
	ذكور	إناث	ذكور	إناث	ذكور	إناث	ذكور	إناث	ذكور	إناث				
تموز\٢٠٠٦	١	–	١	١	–	–	–	١	–	–			٤	2.8
آب	–	–	٣	١	–	–	–	–	–	١			٥	3.5
أيلول	–	–	٣	١	١	١	–	–	٢	٢			١٠	6.99
تشرين الأول	٢	–	٤	٣	١	٢	–	–	–	–			١٢	8.39
تشرين الثاني	–	١	٣	٢	١	٢	–	–	١	–			١٠	6.99
كانون الأول	–	–	٢	١	١	١	–	١	–	١			٧	4.9
كانون الثاني \ 2007	٣	–	٤	٥	١	–	١	٢	١	٤			٢١	14.69
شباط	١	١	٥	١	٤	٤	–	٣	١	٢			٢٢	15.38
آذار	١	–	٣	٢	١	٢	١	–	٢	–			١٢	8.39
نيسان	–	–	٦	–	١	٣	–	٢	٤	٣			١٩	13.29
أيار	١	–	٤	٢	–	١	١	–	٢	١			١٢	8.39
حزيران	١	١	١	٢	–	–	–	٣	–	١			٩	6.29
المجموع	١٠	٣	٣٩	٢١	١٤	١٣	٣	١٢	١٣	١٥			١٤٣	١٠٠
المجموع الكلي	١٣		٦٠		٢٧		١٥		٢٨				١٤٣	100
النسبة المئوية %	9.09		41.96		18.88		10.49		19.58				100	

M: 11.91 , SD: 5.91 , SE: 1.7 , T cal: 6.97 , T tab: 4.47 , P: 0.00

وبينت نتائج الدراسة الحالية إن نسب خضاب الدم عند 32.87 % من المصابين بالمرض كانت تتراوح بين (6.1 gm/dl – 8) في حين كانت نسب خضاب الدم عند 4.2 % من المصابين 12.1<) (gm/dl (جدول، ٢).

جدول (٢) نسبة خضاب الدم (Hb gm / dl) للمصابين بداء الليشمانيا الاحشائية

Hb (gm / dl)	عدد المصابين	النسبة المئوية %
6 – 4	٢٥	17.48
8 – 6.1	٤٧	32.87
10 – 8.1	٤٤	30.77
12 – 10.1	٢١	14.68
> 12.1	٦	4.2
المجموع	١٤٣	١٠٠

أوضحت نتائج الدراسة الحالية أنَّ تعداد كريات الدم البيض عند 35.66 % من المصابين كان يتراوح بين (4000-2000 Cell\ccm) في حين كان تعداد كريات الدم البيض عند 2.8 % من المصابين (12100 Cell\cmm> (جدول،٣).

جدول (٣) تعداد كريات الدم البيض للمصابين بداء الليشمانيا الاحشائية

WBC (Cell/cmm)	عدد المصابين	النسبة المئوية %
4000 – 2000	٥١	35.66
6000 – 4100	٤٨	33.57
8000 – 6100	٢٢	15.38
10 000 – 8100	١٢	8.39
12 000 – 10 100	٦	4.2
>12 100	٤	2.8
المجموع	١٤٣	١٠٠

أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى وجود فروق معنوية 0.05 ≥ P بين توزيع نسب فصائل دم المصابين بداء الليشمانيا الاحشائية إذ كانت أعلى نسبة للمصابين من حاملي فصيلة A 34.27 % واقل نسبة للمصابين من حاملي فصيلة AB 7.69 % (جدول، ٤) .

جدول (٤) النسبة المئوية للمصابين بداء الليشمانيا الاحشائية حسب فصيلة الدم

فصيلة الدم	عدد المصابين	النسبة المئوية %
A	٤٩	34.27
B	٤٣	30.07
O	٤٠	27.97
AB	١١	7.69
المجموع	١٤٣	١٠٠

M: 35.75 , SD: 16.91 , SE: 8.45 , T cal: 4.23 , T tab: 3.18 , P: 0.02

استعملت تقنية PCR في فحص ١٠٠ عينة سريرية كانت منها ٩٣ عينة موجبة وبنسبة ٩٣ % وبينت النتائج عدم وجود فروق معنوية P > 0.05 بين نسبة إصابة الذكور والإناث حسب نوع العينة السريرية إذ كانت حساسية عينات نخاع العظم ١٠٠ % وحساسية عينات الدم 93.33 % وحساسية عينات المصل 91.11 % (جدول،٥).

جدول (٥) توزيع العينات المفحوصة بتقنية PCR حسب نوع العينة السريرية والجنس

نوع العينة السريرية	ذكور			إناث			المجموع		
	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الموجبة	النسبة المئوية %	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الموجبة	النسبة المئوية %	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الموجبة	النسبة المئوية %
نخاع العظم	٦	٦	١٠٠	٤	٤	١٠٠	١٠	١٠	١٠٠
الدم	٢٣	٢٢	95.65	٢٢	٢٠	90.91	٤٥	٤٢	93.33
المصل	٢٣	٢١	91.3	٢٢	٢٠	90.91	٤٥	٤١	91.11
المجموع	٥٢	٤٩	94.23	٤٨	٤٤	91.67	١٠٠	٩٣	٩٣

X2 cal: 1 , X2 tab: 5.99 , P: 0.6

المناقشة Discussion

يعد داء الليشمانيا الاحشائية من الأمراض الخطيرة التي تهدد الحياة عند عدم المعالجة ، شملت الدراسة الحالية ١٥٨ شخصاً من المشتبه بإصابتهم بداء الليشمانيا الاحشائية من المراجعين لمستشفى الولادة والأطفال في محافظة ذي قار .

وجد عند توزيع الإصابات على الفئات العمرية عدم وجود فروق معنوية بين نسبة إصابة الذكور والإناث وفقا للفئة العمرية إذ كانت أعلى نسبة إصابة ضمن الفئة العمرية (7-12) شهرا وبنسبة 41.96 % وهذه النتائج تتفق مع Mehdi (2004) أكثر الإصابات ظهرت على الأطفال دون سن الثانية من العمر وكانت أعلى نسبة للإصابة ضمن الفئة العمرية (7-12)شهراً وبنسبة 41.46 % و Nouri & Al-Jeboori (1973) و Sukker (1985) و Al-Orainey *et al.*,(1994) أنَّ الرضع والأطفال هم أكثر عرضة للإصابة بداء الليشمانيا الاحشائية كما تتفق مع ماأشار إليه العلاق (١٩٩٦) و Al-Edan (2001) أنَّ الأطفال دون سن الخامسة أكثر عرضة للإصابة بالداء والطائي (٢٠٠٢) الأطفال الذين تتراوح أعمارهم بين شهرين إلى ٤ سنوات أكثر عرضة للإصابة بالداء والكسار (٢٠٠٥) أعلى نسبة إصابة ضمن الفئة العمرية (1-2) سنة وبنسبة 54.25 % وهادي (٢٠٠٦) أعلى نسبة إصابة ضمن الفئة العمرية (7-12 شهراً وبنسبة 24.35 % وأشار غياض (٢٠٠٣) أعلى نسبة إصابة في محافظة واسط في الفئة العمرية (4-6) سنة وفي السودان كان معدل عمر المصابين 6.6 سنة (Zijlestra *et al.*,1994) وفي باكستان كانت أكثر الإصابات لأطفال تقل أعمارهم عن ٥ سنوات (Rab & Evans,1995) وفي إيران كانت اغلب الإصابات بين الرضع (Alborzi *et al.*,2006).

صنف داء الليشمانيا في العراق ضمن كلا ازار البحر المتوسط الذي يصيب الأطفال والرضع دون سن الخامسة من العمر ويرجع سبب ارتفاع نسبة الإصابة بين الأطفال إلى عدم اكتمال نمو وتطور الجهاز المناعي للأطفال إضافة إلى عدم وجود العامل المناعي Euglobulin في مصول الأطفال والذي له القدرة على تحطيم الطفيلي (Taub,1956) ويتصف الأطفال بكثرة تعرضهم إلى الوسيط الناقل بسبب زيادة الحركة والنشاط خلال هذه المرحلة من العمر.

تبين من خلال توزيع الإصابات على أشهر السنة المختلفة وجود فروق معنوية بين تكرار نسب الإصابة على أشهر السنة إذ كانت أعلى نسبة إصابة خلال شهر شباط وبنسبة 15.38 % وأقل نسبة إصابة خلال شهر تموز وبنسبة 2.8 % واتفقت هذه النتائج مع كل من Nouri & Al-Jeboori (1973) إذ تزداد نسبة الإصابة بين شهري كانون الأول وآذار وتقل خلال أشهر الصيف ، وأشار العلاق (١٩٩٦) أن أعلى نسبة للإصابة في شهر شباط وأقل نسبة للإصابة في شهر تموز والطائي (٢٠٠٢) أعلى نسبة للإصابة في شهر كانون الثاني ، Mehdi (2004) أعلى نسبة إصابة في شهر كانون الثاني وأقل نسبة إصابة خلال أشهر نيسان وأيلول وتموز، الكسار (٢٠٠٥) أعلى نسبة للإصابة خلال شهري كانون الثاني وشباط ، هادي (٢٠٠٦) أعلى نسبة للإصابة خلال شهري كانون الثاني وشباط وأقل نسبة للإصابة خلال شهر تموز .

يعزى هذا الاختلاف في توزيع الإصابات على أشهر السنة المختلفة إلى تأثير الظروف المناخية كالحرارة والرطوبة على نشاط الناقل إذ أشار Ferroglio *et al.*(2005) إلى ارتفاع نسب الإصابة يعتمد على كثافة الوسيط الناقل.

تزداد كثافة الحشرة في الفترة الممتدة من منتصف آب وأيلول وتشرين الأول إذ يزداد تعرض المرضى إلى الحشرة ثم بعد مرور فترة حضانة المرض تبدأ الأعراض بالظهور خلال تشرين الأول، تشرين الثاني، كانون الأول، كانون الثاني وشباط ثم يلاحظ انخفاض عدد الإصابات خلال أشهر الصيف (James & Chin,2001) .

بينت الدراسة الحالية أنَّ نسب خضاب الدم عند 32.87 % من المصابين كانت تنخفض إلى – 8) (gm/dl 6.1 في حين كانت عند 4.2 % من المصابين (gm/dl 12.1<) ووجد انخفاض تعداد كريات الدم البيض عند 35.66 % من المصابين إلى (Cell\ccm 2000-4000) بينما عند 2.8 % من المصابين 12100<) (Cell\cmm وهذه النتائج توافقت مع ما أشارت إليه الدراسات حول أنَّ الإصابة بداء الليشمانيا الاحشائية يسبب قلة في نسبة خضاب الدم ونقص في تعداد كريات الدم (Babaloo *et al.*,2001) .

وجد من اختبار فصائل دم المصابين بداء الليشمانيا الاحشائية وجود فروق معنوية بين توزيع نسب فصائل دم المصابين بداء الليشمانيا الاحشائية إذ كانت 34.27 % من المصابين يحملون فصيلة A في حين كان 7.69 % من المصابين يحملون فصيلة AB واتفقت هذه النتائج مع ما ذكرته الكسار (٢٠٠٥) بأنَّ أعلى نسبة إصابة بداء الليشمانيا الاحشائية تظهر بين حاملي فصيلة A ويعود سبب ذلك إلى تأثير العوامل الوراثية على انتشار داء الليشمانيا الاحشائية (El-Safi *et al.*,2002) إضافة إلى دور العوامل الجينية في تحديد علاقة الطفيلي بخلايا الدم (Cabell *et al.*,1995) في حين بين Baqir & Al-Jeboori (2002) عدم وجود فروق معنوية في أعداد المصابين

بداء الليشمانيا الاحشائية الذين يحملون فصائل دم مختلفة .

تم استعمال تقنية PCR في اختبار ١٠٠ عينة سريرية مكونة من ١٠ عينات نخاع عظم و ٤٥ عينة دم و٤٥ عينة مصل واتصفت هذه التقنية بالحساسية والدقة العالية إذ وجد أنَّ حساسية هذه التقنية ٩٣ % (٩٣ عينة ايجابية من أصل ١٠٠ عينة) إذ تم اختبار ١٠ عينات نخاع عظم كانت جميعها ايجابية وبنسبة حساسية ١٠٠ % وهذه النتيجة مطابقة لما توصل إليه كل من:

(Katakura *et al.*,1998; Lachaud *et al.*, 2000;Martin-Sanchez *et al.*, 2004 ;Mathis & Deplazes,1995;Minodier *et al.*,1998 ; Osman *et al.*, 1997)

تعود الحساسية العالية لعينات نخاع العظم باستعمال تقنية PCR إلى الكثافة العالية للطفيلي في نخاع العظم (Katakura *et al.*,1998).

استعملت تقنية PCR في اختبار ٤٥ عينة دم كانت منها ٤٢ عينة ايجابية وبنسبة 93.33 % وهذه النسبة مقاربة لنسبة الحساسية ٩٣ % التي توصل إليها Adhya *et al.*(1995) كما أشار Nuzum *et al.*(1995) إلى أنَّ نسبة حساسية تقنية PCR باستعمال عينات الدم ٩٠ % ووجد Andresen *et al.*(1997) وSalorta *et al.*(2001) أنَّ حساسية تقنية PCR باستعمال عينات الدم أكثر من ٩٠ % في حين بين Osman *et al.*(1997) أنَّ حساسية تقنية PCR ٧٠ % عند استعمال عينات الدم إذ كانت هناك ٣٣ عينة ايجابية من أصل ٤٧ عينة دم مفحوصة بهذه التقنية ووجد Campino *et al.*(2000) عند فحصه ٢٠ عينة دم أنَّ ١٥ عينة كانت نتيجتها إيجابية باستعمال تقنية PCR أما Costa *et al.*(1996) و Lachaud *et al.*(2000) فقد وجدوا أنَّ حساسية تقنية PCR باستعمال عينات الدم ٩٧ % .

تضمنت الدراسة الحالية استعمال عينات المصل (٤٥ عينة) واختبارها بتقنية PCR إذ كانت نتيجة ٤١ عينة ايجابية من أصل ٤٥ عينة وبنسبة 91.11 % في حين بين Fissor *et al* .(2004) أنَّ حساسية عينات المصل المفحوصة بتقنية PCR بلغت ٩٧ % إذ كانت هنالك ٣٢ عينة ايجابية من أصل ٣٣ عينة مصل .

أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى أنَّ حساسية تقنية PCR باستعمال عينات الدم 93.33 % هي أعلى من حساسيتها باستعمال عينات المصل 91.11 % ويعود هذا إلى ارتفاع كثافة الطفيلي في الخلايا الوحيدة Monocellular مقارنة مع البلازما Plasma (Palatnik-De-Sousa *et al.*,1996) .

عند مقارنة حساسية تقنية PCR حسب نوع العينة السريرية أشارت الدراسة إلى عدم وجود فروق معنوية بين نسب إصابة الذكور والإناث وفقاً لنوع العينة السريرية إذ كانت حساسية عينات نخاع العظم ١٠٠ % وحساسية عينات الدم 93.33 % وحساسية عينات المصل 91.11 % في حين وجد Osman *et al.*(1997) عند مقارنته حساسية تقنية PCR حسب نوع العينة السريرية أنَّ حساسية عينات نخاع العظم ١٠٠ % وحساسية عينات العقد اللمفية ٨٧ % وحساسية عينات الدم ٧٠ % .

المصادر Reference

المصادر العربية:

الراوي ، خاشع محمود (١٩٨٤) ، المدخل إلى الإحصاء ، كلية الزراعة ، جامعة الموصل ، صفحة ٤٦٩ .

الطائي ، لازم حميد كايد (2002) ، دراسة تأثير بعض المساعدات الحيوية على الاستجابة المناعية ضد الإصابة بطفيلي الليشمانيا الحشوية في الفئران المختبرية ، اطروحة دكتوراه –كلية الطب البيطري- جامعة بغداد .

العلاق ، سعدون فلحي (1996) ، دراسة وبائية في مرض الحمى السوداء (الكلازار) في محافظة ميسان ١ قضاء المجر- رسالة ماجستير –كلية الطب البيطري –جامعة بغداد.

الكسار ، نثيلة رشيد حميد (٢٠٠٥) ، وبائية داء الليشمانيات الحشوي لأطفال محافظة ذي قار-رسالة ماجستير- كلية الطب البيطري جامعة بغداد ، صفحة ٩٩.

غياض ، حميدة محمد حسن (2003) ، دراسة وبائية مصلية لمرض الحمى السوداء باستعمال فحوصات مختبريه مختلفة في محافظة واسط ، رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري -جامعة بغداد .

هادي ، نهى جبوري (2006) ، دراسة وبائية ومصلية لداء الليشمانيا الاحشائية في محافظة ذي قار ، رسالة ماجستير ، كلية التربية – جامعة ذي قار ، صفحة ٩١.

وزارة الصحة – مركز السيطرة على الأمراض الانتقالية ، إحصائية الأعوام ١٩٩٢-٢٠٠٣ م .

المصادر الاجنبية:

Adhya, S. Chatterjee, M. Hassan, M. Q. Mukherjee, S. Sen, S. (1995). Detection of *Leishmania* in the blood of early kala-azar patients with the aid of the polymerase chain reaction.Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 89: 622-624.

Fissore, C. Delaunay, P. Ferrua, B. Rosenthal, E. Del-Giudice, P. Aufeuvre, J. P. Le-Fichoux,Y. and Marty, P. (2004). Convenience of srem for visceral leishmaniasis diagnosis by PCR. J. Clin. Micrbiol., 42(11): 5332-5333.

James, A. and Chin, K. (2001). Control of communicable disease manual 17th Ed. Unofficial report of the American Puplic Health Association., pp: 278-289.

Katakura, K. Kawazu, S.I. Naya, T. Nagakura, K. Ito, M. Aikawa, M. Qu, J.Q.Guan, L.R. Zuo. X.P. Chai, J. J. Chang, K. P. and Matsumoto, Y.(1998). Diagnosis of kala-azar by nested PCR based on amplification of the *Leishmania* mini-exon gene. J. Clin. Microbiol. 36:2173-2177

Lachaud, L. Marchergui-Hammami, S. Chabbert, E. Dereure, J.Dedet, J. P. and Bastien, P. (2002). Comparison of six PCR methods using peripheral blood for detection canine visceral leishmaniasis. J. Clin. Microbiol. 40: 210-215.

Lachaud, L. Dereure, J. Chabbert, E. Reynes, J. Mauboussin, J. M. Oziol, E. Dedet, J. P. and Bastien, P. (2000). Optimized PCR using patient blood samples for diagnosis and follow- up of visceral leishmaniasis, with special reference to AIDS patients. J. Clin. Microbiol., 38(1): 236-240.

Martin-Sanchez, J. Pineda, J. A. Morillas-Marquez, F.Garcia-Garcia, J. A. Acedo, C. and Macias, J. (2004). Detection of *Leishmania infantum* kinetoplast DNA in perioheral blood from asymptomatic individuales at risk for parenterally transmitted infections: relationship between polymerase chain reaction results and other *Leishmania* infection marker. Am. J. Trop. Med. Hyg., 70: 545-548.

Mathis, A. and Deplazes. (1995). PCR and in vitro cultivation for detection of *Leishmania* spp. In diagnostic samples from human and dogs. J. Clin. Microbiol., 33: 1145-1149.

Mehdi, D. S. (2004). Epidemiology and Serological studies on Visceral Leishmaniasis in Southren Iraq. Ph. D. thesis. Collage of Education, University of Basrah.

Minodier, P. Piarroux, R. Garnier, J. M. Unal, D. Perrimond, H. and Dumon, H. (1998). Pediatric visceral leishmaniasis in southern France. Pediatr. Infect. Dis. J., 17: 701-704.

Nouri, L. and Al-Jeboori, T. (1973). Kala-azar in Iraq. An-epidemiological and clinical study. J. Fac. Med. Baghdad.pp.72.

Nuzum, E. White III, F. Thakur, C. Dietze, R. Wages, J. Grogi, M. and Berman, J. (1995). Diagnosis of symptomatic visceral leishmaniasis by use of

Alborzi, A. Rasouli, M. Nademi, Z. Kadivar, M. R. and Pourabbas, B. (2006). Evalution of rK39 strip test for the diagnosis of Visceral Leishmaniasis in infants. WHO. Mediterranean Oriental. J., 12(3/4): 294-299.

Al-Edan, A. Y. (2001). Kala-azar in Al-Fuhood subdistrict, Thi-Qar Governorate: Epidemiological, serological and ecological study. M. Sc. Thesis, College of Medicine, University of Basrah.

Al-Orainey, I. O. Gasim, I. Y. Singh, L. M. Ibrahim, B. Ukabam, S.O. Gonchikar, D. and Shekhawat, B. S. (1994). Visceral Leishmaniasis in Gizan, Saudi Arabia. Ann. Saudi Med. J., 14(5): 396-398.

Andresen, K.; Gasim, S; El-Hassan, A. M.; Khalil, E. A. G.; Barker, D. C.; Theander, T. G., and Kharazmi, A. (1997). Diagnosis of Visceral leishmaniasis by the polymerase chain reaction using blood, bone marrow and lymph node samples from patients from the Sudan. Trop. Med. Int. Health, 2(5):440-444.

Babaloo, Z.; Kaye, M. and Mohammed, B. (2001). Interleukin-B in Irranian patient with visceral leishmaniasis. Trans. Roy.Soc.Trop. Med. Hyg., 95: 85-88.

Baqir, H. and Al-Jeboori, M. (2002). ABO Blood groups and *Leishmania donovani* infection. Iraqi. J. of Med. Sci., 1(4): 377-378.

Cabell, R. Dies, M. and Kriger, H. (1995). ABO group and *Leishmania*. Rev. Bras. Gen., 18: 297.

Campino, L. Cortes, S. Pires, R. Oskam, L. and Abranches, P.(2000). Detection of *Leishmania* in immunocompromised patients using peripheral blood spots on filter paper and the polymerase chain reaction. Eur. J. Microbiol. Infect. Dis. 19: 396-398.

Coles, E. H. (1986). Veterinary Clinical Pathology . 4th Ed. W. B. Saunders Co. Philadephia, PP. 457.

Costa, J. M. Durand, R. Deniau, M. Rivollet, D. Izri, M. Houin, R. Vidaud, M. and Bretagne, S. (1996). PCR enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of leishmaniasis in human immunodeficiency virus infected patients. J. Clin. Microbiol.,34: 1831-1833.

El-Safi, S. H.; Bucheton, B. Kheir, M. Musa, H. Hammad, A. El-Obaid, M. and Dessein, A. (2002). Epidemiology of visceral Leishmaniasis in Atbara area, eastern Sudan. Microbiol. Infect., 4(14): 1439-1447.

Ferroglio,E. Maroli, M. Gastalldo, S. Mignone, W. and Rossi, L.(2005). Canine leishmaniasis, Italy, Emerging. Infect. Dis. www.cdc.gov/Eid.,11(10):1618-1620.

the polymerase chain reaction on patient blood. J. Infect. Dis., 171: 751-754.

Osman, O. F. Oskam, K. Zijlstra, E. E. Kroon, N. C.M. Schoone, G. J. Khalil, E. A. G. El-Hassan, A. M. and Kager, P.A. (1997). Evaluation of PCR for diagnosis of visceral leishmaniasis. J.Clin. Microbiol., 35(10): 2454-2457.

Palatnic-De-Sousa, C. B. Paraguai-De-Souza, E. Gomes, E. M. Soares-Machado, F. C. Luz,K. G. and Borojevic, R. (1996). Transmission of visceral leishmaniasis by blood transfusion in hamsters. Braz. J. Med. Biol. Res., 29: 1311-1315.

Rab, M. A. and Evans, D. A. (1995). *Leishmania infantum* in the Himalayas. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 89(1): 27-32.

Rodgers, M.R. Popper, S. J. and Wirth D.F. (1990). Amplification of kinetoplast DNA as a tool in the detection and diagnosis of *Leishmania*. Exp. Parasitol., 71(3): 267-275.

Saiki, R. K. Gelfard, D. H. Stoffel, S. Scharf, S. J. Higuchi, R. Horn, G. T. Mullis, K. B. and Erlich, H. A. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science., 239 (4839): 487-491.

Salorta, P. Sreenivas, G. Pogue, G. P. Nancy, L. Nakhasi, H. L.Ramesh, V. and Negi, N. S. (2001). Development of a Species-specific PCR assay for detection of *Leishmania Donovani.* Clinical samples from patients with kala-azar and post kala-azar dermal leishmaniasis. J. Clin. Microbiol. 39:849-859.

Sambrook, J.; Fritsh, E.F. and Maniatis, T. (1989). Molecular cloning, a laboratory manual, 2nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. U.S.A.

Sukker, F. (1976). Some epidemiological and clinical aspects of kala-azar in Iraq. Bull. End. Dis. Iraq., 17(1-4): 53-62.

Sukker, F. (1985). Epidemiology of kala-azar in Iraq. End. Dis.Inst. Kala-azar Section. Iraq., Report.

Taub, T. (1956). Quoted by Adler, S. "*Leishmania*" In Advances in Parasiology. New York, Academic Press, 2th Ed. by Dawes, B.1964, p. 70.

World Health Organization. (1984). Tropical Disease Research. 7th Programmed report., pp: 712-718.

Zijlstra, E. E., El-Hassan, A. M., Ismael, A., and Ghalib, H. W.,(1994). Endemic kala-azar in eastern Sudan: a longitudinal study on the incidence of clinical and subclinical infection and post kala azar dermal leishmaniasis. Am. J. Trop. Med Hyg., 51(6): 826-836.