



# دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشکده پزشکی

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد انگل شناسی

عنوان:

بررسی گونه های عامل لیشمانیوز پوستی در استان کرمان به روش

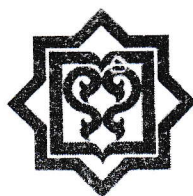
Nested PCR در سال ۱۳۹۴

توسط: مریم رضانی

استاد راهنما: دکتر ایرج شریفی

استاد مشاور: دکتر زهرا بابایی - دکتر محمد رضا افلاطونیان

سال تحصیلی: ۱۳۹۵-۱۳۹۶



**Kerman University of Medical Sciences**

**Faculty of Medicine**

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree  
(MSc)

**Title:**

**Specify the causative agents of cutaneous leishmaniasis in Kerman province  
by Nested PCR in 1394**

**By:**

**Maryam Ramezany**

**Supervisor:**

**Dr. Iraj Sharifi**

**Advisors:**

**1- Dr. Zahra Babaei**

**2- Dr. Mohammad Reza Aflatoonian**



**Year:**

**2016-2017**

## چکیده:

**مقدمه و هدف:** لیشمانیوز پوستی یک بیماری مهم با طیف وسیعی از علائم بالینی می باشد که در بسیاری از مناطق دنیا از جمله ایران اندمیک می باشد. هدف اصلی از انجام این مطالعه تعیین گونه های لیشمانیوز پوستی در استان کرمان می باشد و در مرحله بعدی تعیین قرابت ژنتیکی گونه ها براساس تشخیص مولکولی به روش های Nested PCR و تعیین توالی بود.

## مواد و روش ها:

این مطالعه به صورت توصیفی - تحلیلی طی سال ۱۳۹۵-۱۳۹۴ در استان کرمان انجام

شده است. نمونه های لام بیماران از مراکز کنترل لیشمانیوز پوستی در کرمان و بیم به صورت تصادفی انتخاب شد و مشخصات دموگرافیک و بیماری هر شخص در فرم پرسشنامه تهیه شده ثبت شد. برای شهرستان های استان که اغلب فاقد مرکز فوق بودند نمونه های لام حاوی انگل و مشخصات دموگرافیک و بالینی بیمار با مراجعه مستقیم و هماهنگی با مراکز بهداشت استان تهیه گردید. نمونه ها از ضایعات مشکوک با روش آزمایش مستقیم به کمک تین و دسته بستری صورت گرفت و لام ها بعد از ثابت کردن با متانول و رنگ آمیزی با گیمسا به صورت میکروسکوپی برای تشخیصی آماسیگوت ها در نمونه مورد مطالعه قرار گرفتند. سپس DNA انگل استخراج و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی لیشمانیا ژن ITS1 با روش Conventional PCR تکثیر شدند. سپس از روش Nested PCR برای تعیین حسیت انگل استفاده شد. ۳۴ ایزوله به طور تصادفی انتخاب و جهت تعیین توالی ارسال شدند.

## یافته ها:

از ۲۰۰ لام تهیه شده از افراد آلوده (نمونه مثبت)، ۱۷۴ لام بیماران، مورد استخراج DNA قرار

گرفت. از این افراد ۷۲ نفر (۴۱٪) مؤنث و ۱۰۲ نفر (۵۹٪) مذکر بودند. بیشترین میزان آلودگی مربوط به گروه سنی ۲۱-۳۰ سال (۶۸٪) و کمترین آلودگی مربوط به گروه سنی < ۴۰ (۸٪) می باشد. از نظر جنسیت بیشترین آلودگی در افراد مذکر ۱۰۲ نفر (۵۹٪) و بعد از آن در افراد مؤنث ۷۲ نفر (۴۱٪) دیده شد. بیشتر بیماران آلوده به لیشمانیا تروپیکا دارای یک زخم ۹۴ نفر (۶۱٪) و کمترین میزان آلودگی مربوط به افراد دارای  $\geq 3$  زخم (۱۳٪) بودند و برای افراد آلوده به لیشمانیا طوز، بیشترین آلودگی مربوط به افراد دارای یک زخم با تعداد ۱۵ نفر (۷۵٪) و تنها ۱ نفر (۵٪) دارای ۲ زخم بود. بیشترین ضایعات پوستی در لیشمانیا تروپیکا روی دست ۶۹ نفر (۴۴/۸٪) و همچنین بیشترین ضایعات پوستی در لیشمانیا طوز روی دست ۱۰ نفر (۵۰٪) می باشد. از نظر محل زندگی در لیشمانیا تروپیکا بیشترین مورد در شهرستان کرمان ۲۸ نفر (۴۶/۱٪) و کمترین مورد در شهرستان های شهربابک، کوهبنان، شهداد ۱ نفر (۰/۱۶٪) و در

لیشمانیا ماژور بیشترین مورد در شهرستان کرمان ۵ نفر (۲۵٪) و کمترین مورد در شهرستان های شهداد، راور، بافت هرکدام ۱ نفر (۵٪) دیده شد. این تعداد نمونه به روش مستقیم مورد آزمایش روش Nested PCR قرار گرفتند.

**نتیجه گیری:** بر اساس نتایج این مطالعه، لیشمانیوز پوستی در استان کرمان اکثرا از نوع لیشمانیوز شهری

ناشی از لیشمانیا تروپیکا و لیشمانیوز روستایی با درصد کمتر ناشی از لیشمانیا ماژور می باشد.

**کلمات کلیدی:** لیشمانیوز پوستی، لیشمانیا تروپیکا، لیشمانیا ماژور، Nested PCR

## Abstract

**Background:** Cutaneous leishmaniasis is an important disease with a wide range of clinical signs that is common in many parts of the world, including Iran, and is a major public health problem. The main objective of this study was to determine the species of cutaneous leishmaniasis in Kerman province, and in the next step, determination of the species of parasite and the genetic affinity of the species based on molecular diagnosis by Nested PCR and sequencing.

**Materials and Methods:** This study was performed as a descriptive cross-sectional study between 2015-2016 in Kerman Province. Samples were randomly selected from control centers of Leishmaniasis in Kerman and Bam. Demographic characteristics were recorded in the form of a questionnaire. For provincial cities that often lacked the control center, samples were provided with direct referral and coordination with the provincial health centers. Skin scrapings were taken by a scalpel and blade from the edge of the skin lesions, smeared on the glass slides, air dried, methanol-fixed Giemsa-stained and observed microscopically. Then DNA was extracted for ITS1 gene amplification by convention PCR and Nested-PCR and 34 isolates for sequencing.

**Results:** Of the 200 slides prepared from infected people (positive samples), 174 patients received DNA extraction. Of these, 72 (41%) were female and 102 (59%) were male. All age groups were affected and the incidence rate was the highest in 21-30 years of age group (68%) and the lowest in >40 years old individuals (8%), although there was no significant difference regarding the sex and age. The majority of patients with *Leishmania tropica* had one lesion (61%) on hands (44.8%) and most of the cases occurred in Kerman city (46.1%) and the majority of patients with *Leishmania major* had one lesion (75%) on hands (50%) and most of the cases occurred in Kerman city (25%). Based on the Nested-PCR analysis, all the *Leishmania* isolates were *L. tropica* and *L. major*.

**Conclusion:** According to the results of this study, cutaneous leishmaniasis in Kerman province is mostly urban leishmaniasis caused by *Leishmania tropica* and rural leishmaniasis with a lower percentage of *Leishmania major*.

**keywords:** Cutaneous leishmaniasis, *Leishmania tropica*, *Leishmania major*, Nested PCR



بسمه تعالی

تاریخ.....

شماره.....

پیوست.....

## صور تجلسه دفاع از پایان نامه

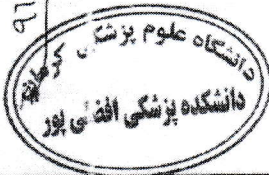
دانشگاه علوم پزشکی کرمان  
تحصیلات تکمیلی دانشگاه

جلسه دفاعیه پایان نامه تحصیلی خانم مریم رمضانی دانشجوی کارشناسی ارشد رشته آنکل شناسی پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان " بررسی گونه های عامل لیشماتیوز پستی در استان کرمان به روش PCR (Nested PCR) در سال ۱۳۹۴ " در ساعت ۱۰ صبح روز دوشنبه مورخ ۹۶/۷/۳ ساختمان رازی با حضور اعضای محترم هیات داوران متشکل از:

امضا	نام و نام خانوادگی	سمت
	جناب آقای دکتر ایرج شریفی	الف: استاد راهنما
	سرکار خانم دکتر زهرا بابایی جناب آقای دکتر محمدرضا افلاطونیان	ب: استاد ان مشاور
	جناب آقای دکتر ناصر ضیا علی	ج: عضو هیات داوران (داخلی)
	جناب آقای دکتر شهریار دبیری	د: عضو هیات داوران (خارجی)
	جناب آقای دکتر حسین حسینی نوه	ه: نماینده تحصیلات تکمیلی

تشکیل گردید و ضمن ارزیابی به شرح پیوست با درجه بسیار خوب... و نمره ۱۸/۱-... مورد تأیید قرار گرفت.

مهر و امضاء معاون آموزشی

۵۱۰۱۵  
۹۶/۷/۳