١٤٩٧٣٨

دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشکده پزشکی افضلی پور

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته انگل شناسی پزشکی

عنوان:

بررسی گونه ایزوله های جداشده وتعیین تنوع ژنتیکی ژن MDR1 دربیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی مقاوم به گلوکانتیم درشهر بم

توسط: ریحانه پور

استاد راهنما: دکترایرج شریفی

استاد مشاور: دکتر بهرام کاظمی

۱۳۸۹/۱۰/۱۲

۱۴۹۷۳۸

سال تحصیلی: ۱۳۸۹-۱۳۸۸

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

پژوهشگاه علوم و فناوری اطلاعات ایران

IRANDOC

مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران

دانشگاه علوم پزشکی کرمان
مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه

بسمه تعالی

تاریخ:.....
شماره:.....
پیوست:.....

صورتجلسه دفاع از پایان نامه

****

جلسه دفاعیه پایان نامه تحصیلی کارشناسی ارشد خانم ریحانه پور دانشجوی رشته انگل شناسی تحت عنوان:

بررسی گونه وتنوع ژنتیکی ژن MDR1 ایزوله های جدا شده از بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی مقاوم به داروی گلوکانتیم

در شهر بم در ساعت۱۰:۳۰روزچهار شنبه مورخ ۸۹/۴/۹ با حضور اعضای محترم هیات داوران متشکل از :

سمت	نام و نام خانوادگی	امضاء
الف: استاد راهنما :	جناب آقای دکترایرج شریفی	
ب : عضو هیات داوران (داخلی)	جناب آقای دکترمجید فصیحی هرندی	
ج: عضو هیات داوران (خارجی)	جناب آقای دکتر شهریار دبیری	
د: نماینده تحصیلات تکمیلی	خانم پروانه شریفی	

تشکیل گردید و ضمن ارزیابی به شرح پیوست با درجه .....عالی.....و نمره.....۱۹/.....مورد تأیید قرار گرفت.

مهر و امضاء معاون آموزشی

PG12

دانشگاه علوم پزشکی کرمان
دانشکده پزشکی افضلی پور

مراتب تشکر و قدردانی خود را از استاد بزرگوارم جناب آقای دکتر ایرج شریفی، استاد علم و اخلاق، دارم

که در تمام مراحل پایان نامه حامی و پشتیبان من بودند.

از زحمات و راهنمایی های جناب آقای دکتر بهرام کاظمی کمال تشکر را دارم.

از جناب آقای دکتر دبیری و جناب آقای دکتر فصیحی که داوری پایان نامه اینجانب را بر عهده

داشتند، نهایت سپاس را دارم.

مراتب سپاسگزاری خود را از اساتید محترم گروه انگل شناسی، جناب آقای دکتر فصیحی و جناب آقای دکتر ضیاعلی که با راهنمایی های ارزنده شان مرا در این پژوهش یاری رساندند، اعلام می نمایم.

از همکاری های صمیمانه کلیه پرسنل خوب و زحمتکش گروه انگل شناسی و مرکز تحقیقات لیشمانیوز تشکر می کنم.

از همکلاسی ها و دوستان خوبم، خانم ها الهام حاجی علیلو، فاطمه نوروزی، معصومه خزاعی، لیلی زحمتکش، سارا عامری نهایت تشکر را دارم.

نخستین دسترنجم را تقدیم به دو شمع هستی بخش زندگی ام، پدر و مادر عزیزم می کنم که همواره گنجینه قلبم مملو از

محبت های بی دریغ آنهاست.

از خواهر و برادرم، سمیرا و رضای عزیز

که همواره مشوق و مایه دلگرمی من در طول تحصیل بودند

تشکر می کنم.

چکیده فارسی

چکیده

مقدمه و هدف : لیشمانیوز پوستی بیماری انگلی شایع در جهان از جمله ایران است. لیشمانیا تروپیکا و لیشمانیا ماژور عوامل لیشمانیوز پوستی در ایران است و شهر بم یکی از کانون های بسیار قدیمی وشناخته شده آن می باشد.هدف از این مطالعه،تعیین گونه ایزوله های مقاوم به مگلومین آنتی مونات(گلوکانتیم) وبررسی تنوع ژنتیکی ژن MDR1در بم می باشد ، تا راهکاری مناسب جهت برنامه ریزی وکنترل بیماری ، فراهم شود.

روش کار : این مطالعه طی سال های ۱۳۸۸-۱۳۸۷ در شهر بم ودانشکده پزشکی کرمان، صورت گرفت.از مجموع ۲۱۲۶نفربیمار مبتلا به لیشمانیوز پوستی، ۵۱ نفر از میان ۲۳۵ نفر (۱۱٪) بیمارمقاوم به گلوکانتیم مراجعه کننده به مرکز سالک بم ،به طور تصادفی انتخاب وپس از نمونه گیری وانجام مراحل کشت واستخراج DNA ، باروش Nested-PCRتعیین گونه ،سپس باروش Classic PCRژن MDR1تکثیر گردید وایزوله ها ازبیمارانی که بیشترین دوره درمانی با گلوکانتیم را گذرانده وبهبودی پیدا نکرده بودند ، جهت تعیین توالی اسیدهای نوکلئیک مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: در این بررسی، ۱۲۲ نفر (۵۸/۸٪) از بیماران مقاوم به گلوکانتیم مذکر و ۱۱۳ نفر (۴۱/۲٪) مونث بودند هیچ گونه اختلاف آماری معنی داری بین دوجنس مشاهده نگردید. حداکثر موارد مقاوم در گروههای سنی ۲۱-۱۱سال (۲۹/۴٪) ،سپس ۱۰≤سال (۲۱/۶٪) وکمترین فراوانی(۵/۹٪)در گروه سنی بالای ۵۵ سال دیده شد ودرمجموع شیوع مقاومت ۱۱٪ تخمین زده شد.بیشتر ضایعات برروی صورت (۵۵/۵٪) ،۶۴/۵٪ از بیماران دارای یک زخم و ۳۳/۳٪ از آنها دارو را به صورت موضعی دریافت کردند.واکنشPCR ، گونه انگل عامل بیماری را در تمامی ۵۱ ایزوله مورد بررسی،لیشمانیا تروپیکا مشخص نمودوتمام ایزوله ها در واکنش PCR ژن MDR1 در ناحیه ۹۶۷bp باند دادند وهیچ تفاوتی در الگوی باندهای ایجاد شده مشاهده نگردید. از میان ۲۰ ایزوله ای که به طور تصادفی جهت انجام تعیین توالی ارسال گردیدند، تنها ۹ ایزوله در ترادف اسیدهای نوکلئیک با بقیه متفاوت بودند که در بانک ژن تحت Accesion Number مشخص به ثبت رسیدند .

نتیجه گیری: این مطالعه برای اولین بار در شهر بم برروی نمونه های مقاوم به گلوکانتیم ، صورت گرفته است وتعداد موارد بیماری ومیزان بروز مقاومت در سالهای اخیر بویژه بعد ار زلزله ۱۳۸۲ افزایش یافته ، لذاضرورت انجام مطالعات بیشتری جهت استفاده از داروهای جدیدتر بایدمورد توجه قرار گیرد.

واژه های کلیدی: لیشمانیوز پوستی، لیشمانیا تروپیکا، مقاومت دارویی ، Nested PCR، ژن MDR1 ،بم.

فهرست مندرجات

عنوان صفحه

چکیده فارسی.....الف

فهرست جداول.....ب

فهرست تصاویر ونمودارها.....ج

فهرست فصل اول:مقدمه وهدف

۱-۱ بیماری لیشمانیوز.....۳

۱-۲طبقه بندی انگل لیشمانیا.....۴

۱-۳جایگاه تاکسونومیک انگل لیشمانیا.....۴

۱-۴تنوع درون گونه ای انگل لیشمانیا.....۷

۱-۵تاریخچه لیشمانیوز در جهان.....۷

۱-۶تاریخچه لیشمانیوز درایران.....۹

۱-۷چهره اپیدمیولوژیک لیشمانیا درجهان.....۱۰

۱-۸لیشمانیوز احشایی.....۱۲

۱-۹لیشمانیوز پوستی بعد کالازار(PKDL).....۱۳

۱-۱۰عفونت توام لیشمانیا وHIV.....۱۳

۱-۱۱چهره اپیدمیولوژیک لیشمانیا در ایران.....۱۳

۱-۱۲عوامل موثردر اپیدمی لیشمانیا.....۱۴

۱-۱۳مورفولوژی لیشمانیا.....۱۵

۱-۱۴بیولوژی وسیرتکاملی لیشمانیا.....۱۶

۱-۱۵بیوشیمی لیشمانیا.....۱۷

۱-۱۶چرخه زندگی لیشمانیا.....۱۸

۱-۱۷مخازن لیشمانیا در جهان.....۲۰

۱۸-۱مخازن لیشمانیا درایران..... ۲۱

۱۹-۱ناقلین لیشمانیا..... ۲۲

۲۰-۱راههای انتقال لیشمانیا به انسان..... ۲۵

۲۱-۱تظاهرات بالینی لیشمانیوز پوستی..... ۲۵

۲۲-۱روشهای تشخیص آزمایشگاهی..... ۲۹

۲۳-۱معیارهای داخلی وخارجی طبقه بندی اپیدمیولوژی لیشمانیا..... ۳۳

۲۴-۱درمان لیشمانیوز پوستی..... ۳۴

۲۵-۱ایمن سازی..... ۴۱

۲۶-۱ایمونوتراپی..... ۴۱

۲۷-۱انواع واکسن های لیشمانیا..... ۴۱

۲۸-۱مکانیسم مقاومت دارویی درلیشمانیا..... ۴۲

۲۹-۱پیشگیری وکنترل بیماری..... ۴۵

۳۰-۱ژنوم لیشمانیا..... ۴۷

۳۱-۱روش PCR..... ۵۰

۳۲-۱انواع روش PCR..... ۵۴

فصل دوم:بررسی متون وپیشینه تحقیق..... ۵۸

فصل سوم: مواد وروش کار

۱-۳ضرورت انجام مطالعه..... ۶۱

۲-۳انتخاب جامعه مورد مطالعه..... ۶۱

۳-۳حجم نمونه..... ۶۲

۴-۳محدودیت های طرح..... ۶۲

۵-۳ویژگیهای جغرافیایی وجمعیتی بم..... ۶۲

۶-۳نوع مطالعه ونمونه گیری..... ۶۲

۳-۷ ثبت اطلاعات مربوط به بیماران..... ۶۳

۳-۸ نحوه تهیه نمونه وگسترش..... ۶۴

۳-۹ شرایط ونحوه انتقال محیط کست از فیلد به آزمایشگاه..... ۶۴

۳-۱۰ رنگ آمیزی گسترش..... ۶۴

۳-۱۱ کشت در شرایط invitro..... ۶۵

۳-۱۲محیط های کشت وکشت انبوه..... ۶۹

۳-۱۳ نگهداری ایزوله هادرتانک نیتروژن..... ۷۰

۳-۱۴مواد ووسایل لازم جهت جداسازی انگل لیشمانیا..... ۷۱

۳-۱۵استخراجDNA..... ۷۲

۳-۱۶مواد ووسایل لازم جهت استخراج DNA..... ۷۶

۳-۱۷استخراج DNAازگسترش زخم ومحیط کشت با کیت Bioneer..... ۷۷

۳-۱۸ استخراج DNAازگسترش زخم ومحیط کشت با کیت Roche..... ۸۰

۳-۱۹تعیین غلظت DNA..... ۸۱

۳-۲۰آزمایشات PCR..... ۸۱

۳-۲۱مواد ووسایل لازم جهت انجام PCR..... ۸۵

۳-۲۲طرز تهیه ژل آگارز..... ۸۶

۳-۲۳عکسبرداری با دستگاهGel doc..... ۸۷

۳-۲۴وسایل ومواد موردنیاز جهت الکتروفورز..... ۸۸

۳-۲۵انجام توالی یابی وسکوانسینگ ۸۸

فصل چهارم:نتایج..... ۸۹

فصل پنجم :بحث ونتیجه گیری..... ۱۰۵

فهرست منابع فارسی ولاتین..... ۱۱۱

فهرست جداول

عنوان صفحه

جدول۱-۱: جایگاه انگل لیشمانیا درسلسله مراتب جانوری..... ۴

جدول ۲-۱:رده بندی پشه خاکی..... ۲۲

جدول۳-۱:داروهای رایج دردرمان لیشمانیوز ۴۰

جدول ۱-۳:طرزتهیه محلولLysis buffer..... ۷۴

جدول ۲-۳:توالی بازهای آلی پرایمرهای مرحله Nested-PCR..... ۸۲

جدول ۳-۳:تهیه مخلوط اصلی(Master mix)مرحله اول Nested-PCR..... ۸۳

جدول۴-۳ :تهیه مخلوط اصلی(Master mix)مرحله دوم Nested-PCR..... ۸۴

جدول۵-۳: تهیه مخلوط اصلی(Master mix) مرحله MDR1-PCR..... ۸۵

جدول۱-۴: میزان فراوانی بیماران مقاوم به گلوکانتیم در بم به تفکیک گروه سنی وجنس..... ۸۹

جدول ۲-۴: لیست شماره های ثبت ژنی ایزوله های مقاوم ۹۴

فهرست تصاویر ونمودارها

عنوان صفحه

شکل۱-۱: سیرتکاملی لیشمانیا در ناقل ومیزبان..... ۲۰

شکل ۱-۴:نتایج مرحله دوم Nested-PCR ایزوله های مقاوم به گلوکانتیم..... ۹۳

شکل ۲-۴:نتایج MDR1-PCR ایزوله های مقاوم به گلوکانتیم..... ۹۴

شکل ۳-۴:کروماتوگرام رسم شده توسط نرم افزارchromas14 یک ایزوله مقاوم..... ۹۵

شکل ۴-۴:مقایسه الاین دوتایی سکانس های ایزوله های مقاوم با همتای ژنی خود در بانک ژن..... ۹۶

نمودار ۱-۴:میزان فراوانی بیماران مقاوم به گلوکانتیم در بم به تفکیک گروه سنی..... ۹۰

نمودار ۲-۴:میزان فراوانی محل ضایعه در بیماران مقاوم به گلوکانتیم دربم..... ۹۰

نمودار ۳-۴:میزان فراوانی بیماران مقاوم به گلوکانتیم در بم بر حسب روش درمان..... ۹۱

نمودار ۴-۴:میزان فراوانی بیماران مقاوم به گلوکانتیم در بم برحسب طول دوره درمان ۹۲

فصل اول

مقدمه و اهداف

الف)بیان مسئله

لیشمانیوز پوستی از نظر سازمان جهانی بهداشت (WHO) یکی از بیماری های مهم انگلی در جهان بشمار می رود وجزء سه بیماری اول مرکز تحقیقات بیماریهای گرمسیری طبقه بندی شده است .دامنه پراکندگی آن در سالهای اخیر از مرز ۸۸کشور گذشته وبیشتر از ۱۲میلیون نفر در جهان به این بیماری مبتلا بوده وحداقل، ۳۵۰میلیون نفر در معرض ابتلا به آن هستند. ایران، افغانستان، سوریه وعربستان سعودی در خاورمیانه جزو کشورهای اندمیک لیشمانیوز پوستی محسوب می شوند(Desjeux,۲۰۰۱;Croft&Sundar,۲۰۰۶).

بیماری در ایران به دو فرم اپیدمیولوژیکی گزارش شده است که یکی از آنها نوع شهری (آنتروپوئونوز) که عامل آن لیشمانیا تروپیکا وناقل آن فلبوتوموس سرژانتی و مخزن انسان، می باشد ودر شهرهای تهران، مشهد ،کرمان بم، قم، ساوه ،خمینی شهر، سبزوار و نیشابور در تمام فصول سال شیوع دارد (Nadim&Aflatoonian,۱۹۹۵). در استان کرمان شهرستان های بم وجیرفت کانون لیشمانیوز شهری،رفسنجان،شهربابک،بافت ،سیرجان وزرند کانون نوع روستایی هستند.

(Sharifi,et al,۱۹۹۸) (افلاطونیان وهمکاران،۱۳۸۵).

براساس گزارش مرکز مدیریت بیماری ها، تعداد مبتلایان به انواع مختلف لیشمانیوز در ایران، سالیانه ۲۵-۲۰ هزار مورد است که البته میزان قطعی آن چندین برابر این مقدار تخمین زده می شود(Center for Management of Diseases,۲۰۰۸).

شهر بم از کانون های اصلی و قدیمی لیشمانیوز شهری قبل از زلزله بوده که پس از زلزله۵ دیماه۱۳۸۲، تغییرات جمعیتی و زیست محیطی قابل توجهی در چهره اپیدمیولوژیک بیماری ایجاد شده است.

(افلاطونیان وهمکاران،۱۳۸۵)(Yaghoobi&Hanafi,۲۰۰۲)

بر اساس مطالعاتی که در شهر بم در طی سالهای ۱۳۷۸-۱۳۷۴ توسط شریفی وهمکاران انجام گرفت گونه غالب لیشمانیوز پوستی ، لیشمانیا تروپیکا بوده که البته با توجه به تغییراتی که پس از زلزله در شهربم به وقوع پیوسته مجددا تعیین گونه غالب انجام پذیرد (افکاروهمکاران،۱۳۸۴)(Sharifi et al,۱۹۹۸).

روش درمانی در این بیماری ،استفاده از ترکیبات پنج ظرفیتی آنتی موان بویژه مگلومین آنتی مونات(گلوکانتیم) است که در اکثر نقاط دنیا به عنوان داروی خط اول شناخته شده ولی گزارشات متعدد کلینیکی به خصوص در مناطق اندمیک، حاکی از افزایش بیماران مقاوم نسبت به داروی مذکور ووجود انگل های مقاوم می باشد. به دلیل بروز مقاومت بر علیه گلوکانتیم، تحقیق ومطالعه در مناطق فوق تمرکز یافته ، تا دستاوردهای آن بتواند در زمینه پیشگیری وکنترل بیماری کمک کننده باشد.

(Center for Management of Disease,۲۰۰۸)

فقدان واکسن موثر ومشکلات کنترل ناقل ،عوارض جانبی داروهای خط اول وپیشرفت مقاومت دارویی در انگل ، لیشمانیوز پوستی را به یک معضل بهداشتی مبدل نموده وضروری است که راههای مولکولی مختلف را جهت تعیین استراتژی درمانی بیماری درآینده پایه گذاری وازاستفاده غیر موثر داروهای توکسیک توسط بیماران آلوده به نوع مقاوم انگل، جلوگیری شود، ولی قبل از آن شناخت مکانیسم مقاومت در الویت می باشد(Croft&Sundar,۲۰۰۶).

با پیشرفت روشهای مولکولی از جمله PCR،تشخیص افتراقی لیشمانیا در سطوح تاکسونومیک میسر شده است.دراین میان توالی های مینی سیرکل در DNAکینتوپلاست انگل، از اهمیت ویژه ای جهت تعیین گونه انگل لیشمانیا برخوردار می باشند(Noyes&Reyburn,۱۹۹۸).

باتوجه به اهمیت مقاومت دارویی در لیشمانیا ، در این پروژه،پس از تعیین گونه انگل با روش Nested-PCR،ژن MDR_1 با استفاده از یک جفت پرایمر تکثیر شد و تعداد ۲۰ ایزوله از ۵۱ ایزوله مقاوم ، که حداقل دو دوره کامل مگلومین آنتی مونات (گلوکانتیم)دریافت داشتند ، انتخاب گردیدو محصول PCRژن MDR۱آنها ،جهت sequencing(تعیین توالی) به یکی از شرکت های خارجی فرستاده شد وسپس بااستفاده از اطلاعات موجود در NCBI gene bank ونرم افزار Chromas۱۴ مطابقت داده شدند.

هدف اصلی

تعیین گونه وتنوع ژنتیکی ژن MDR_1در ایزوله های جداشده مقاوم به داروی گلوکانتیم در بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی در شهر بم

اهداف فرعی طرح

۱- تعیین گونه ایزوله های جدا شده از بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی در شهر بم.

۲- تعیین تنوع ژنتیکی ژن MDR۱در ایزوله های لیشمانیا تروپیکای جدا شده از بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی در شهر بم

۳- تعیین توالی ژن های ایزوله های مقاوم به گلوکانتیم جدا شده از بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی در شهر بم.

اهداف کاربردی طرح

۱-تعیین گونه های لیشمانیا کمکی در جهت درمان بهتر ودر نتیجه برنامه ریزی مناسب برای کنترل موثر بیماری خواهد بود.

۲-تعیین بروزمقاومت بر علیه لیشمانیا تروپیکا گام مهمی در جهت معرفی واستفاده از داروهای جایگزین مناسب برای درمان دقیق بیماران خواهد بود.

سؤالات پژوهش (با توجه به اهداف طرح)

۱- نسبت بین گونه های عامل لیشما نیوز پوستی در بم به چه میزانی است؟

۲- آیا در ژن MDR[۱] ایزوله های لیشمانیا ترواپیکا در بم تفاوتی وجود دارد؟

۳- توالی ژن های ایزوله های مقاوم به گلوکانتیم در بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی در بم چگونه است؟

ب) کلیات

۱-۱بیماری لیشمانیوز

لیشمانیوز از جمله بیماریهای خونی نسجی و متعلق به خانواده تریپانوزومیده است . اعضای این خانواده دارای یک هسته و یک کینتوپلاست و یک تاژک منشأ گرفته از بلفاروپلاست می باشند. بیماری لیشمانیوزدر کشورهای گرمسیری ونیمه گرمسیری شامل ۸۸ کشور که ۲۲ کشور از دنیای جدید و ۶۶ کشور از دنیای قدیم بوده ودر میان این کشورها، ۷۲ کشور در حال توسعه و ۱۳ کشور کمتر توسعه یافته وجود دارد.در تعدادی از کشورهای توسعه یافته اروپایی لیشمانیوز احشایی کم و بیش شیوع دارد.

عامل بیماری لیشمانیوز در انسان حدود ۲۰ گونه و زیر گونه انگل لیشمانیااست که از طریق خونخواری پشه خاکی های جنس فلبوتوموس[۱] در دنیای قدیم، لوتزومیا [۲]در دنیای جدید منتقل می گردند. این پشه خاکی ها معمولاً درون غارها، جنگل ها و یا لانه جوندگان کوچک تکثیر می یابند و برخی از حیوانات اهلی و وحشی و گاهی انسان به عنوان مخزن بیماری محسوب می شوند.

(Markell et al,۲۰۰۶)

میزان بروز سالیانه لیشمانیوز پوستی در حدود ۱/۵-۱ میلیون نفر و نوع احشایی ۵۰۰هزارنفر تخمین زده می شود. میزان شیوع ۱۲ میلیون نفر و جمعیت در معرض خطر حدود ۳۵۰ میلیون نفر می باشد. میزان خسارات بهداشتی واقتصادی ناشی از این بیماری ها[۳] (DALY) در مردان ۸۶۰۰۰۰ و در زنان ۱/۲ میلیون برآورد شده است.در جنوب اروپا، با افزایش موارد بیماری ایدز و بروز لیشمانیوز، شکل جدیدی از بیماری تحت عنوان لیشمانیوز با عفونت همراه HIV[۴] ایجاد شده است که به دلیل مصرف مواد مخدر تزریقی، مهاجران و پناهندگان، کارگران فصلی و رانندگان بین کشوری می باشد(WHO,۲۰۰۲;WHO,۲۰۰۴).

---

۱ -phlebotomus
۲ -Lutzomia
۳ -Disability Adjusted Life year (DALY)
۴ -Leishmania/HIV Co-infection

۲-۲ طبقه بندی انگل لیشمانیا

طبقه‌بندی گونه‌های لیشمانیای پستانداران در جدول ۱-۱ نشان د اده شده است. برخی از گونه‌ها تا کنون اثبات نشده است که انسان را آلوده می‌کنند،اما ممکن است در پشه خاکی های ناقل یا میزبان مخزن یافت شوند (ذوقی،۱۳۷۶).

اختصاصیت هر زیرجنس به چند فاکتور بستگی دارد که شامل توزیع جغرافیایی، مخازن حیوانی و گونه‌های پشه خاکی می باشد.

جدول ۱-۱:جایگاه انگل لیشمانیا در سلسله مراتب جانوری

Kingdom	Protista	Haeckel,۱۸۶۶
Subkingdem	Protozoa	Goldfuss, ۱۹۱۷
Phylum	Sarcomastigophora	Honigberg & Balamuth, ۱۹۶۳
Subphylum	Mastigophora	Deising , ۱۸۶۶
Class	Zoomastigophora	Calkins, ۱۹۰۹
Order	Kinetoplastida	Honigberg ۱۹۶۳, Emend ۱۹۷۶
Suborder	Trypanosomatina	Kent , ۱۸۸۰
Family	Trypanosomatidae	Doflein , ۱۹۰۱, Emend ۱۹۰۵
Genus	Leishmania	Ross , ۱۹۰۳

۳-۱جایگاه تاکسونومیک انگل لیشمانیا

انگل های لیشمانیا و تریپانوزوما اعضاء انگلی گروه وسیعی از تک یاخته های تاژکدار متعلق به تاژکداران رده کینتوپلاستیدا[۱] می باشند که دارای یک جسم درون سلولی و خارج هسته ای بنام کینتوپلاست و یک ساختار بازوفیلیک و متشکل از دزوکسی ریبونوکلئیک اسید[۲] و شبکه ای متشکل از ماکسی سیرکل و مینی سیرکل[۳] هستند.

سازمان بهداشت جهانی در سال ۱۹۹۰میلادی، مبنای تقسیم بندی لیشمانیاها را در دوزیر جنس، براساس محل تکثیر انگل در بدن حشره ناقل، اعلام نمود(WHO,۱۹۹۰).

۱ -kinetoplastid
۲ -Deoxy Ribonucleic Acid(DNA)
۳ -Maxi & Mini circle

-زیر جنس لیشمانیا(Leishmania) در دنیای جدید و دنیای قدیم

-زیر جنس ویانیا (Viannia) محدود به دنیای جدید

۱- suprapylaria: شامل تمام انگل های لیشمانیا بوده که محل تکثیر آنها در روده میانی[۱] و روده قدامی[۲] پشه خاکی می باشد که این گروه در زیر جنس Leishmania قرار می گیرند.

۲- peripylaria: شامل انگل هایی است که در سیکل زندگی آنها یک دوره طولانی مدت تکامل به اشکال تاژکدارگرد وکوتاه به نام Stumpy در روده خلفی[۳] پشه خاکی بوده و سپس به ناحیه Midgut و foregut مهاجرت کرده و این گروه در زیر جنس viannia هستند.

۳- Hypopylaria: انگل هایی که در دوره خلفی پشه خاکی تکثیر یافته و هرگز وارد ضمایم دهانی پشه نمی شوند. امروزه این گروه را در جنس جداگانه ای که شامل لیشمانیای خزندگان است قرار می دهند. این جنس بر خلاف دو زیر جنس دیگر از طریق خونخواری منتقل نمی شود بلکه حشره ناقل باید توسط میزبان خورده شود.

تقسیم بندی زیر جنس های لیشمانیا و ویانیا به شرح ذیل می باشد:

The Leishmania donovani complex

L.(L.) donovani

L.(L.) infantum

L.(L.) chagasi

The Leishmania(leishmania) tropica complex

L.(L.) tropica

L.(L.) killicki

The Leishmania (Leishmania) major complex

L.(L.) major

---

۱ -Midgut
۲ -Foregut
۳ - hindgut

The leishmania (leishmania) aethiopica complex

L.(L.) aethiopica

The Leishmania (leishmania) mexicana complex

L. (L.) mexicana

L. (L.) amazonensis

L. (L.) venezuelensis

L. (L.) garnhami

The Leishmania (viannia) braziliensis complex

L. (V.) braziliensis

L. (V.) peruviana

L. (V.) panamensis

L. (V.) guyanensis

L. (V.) lainsoni

L. (V.) shawi

L. (V.) naiffi

L. (V.) equatoriensis

برخی از گونه های لیشمانیا در حیوانات، در دنیای قدیم و جدید شناسایی شده اند ولی موارد انسانی آن تا به حال گزارش نشده است که در دنیای قدیم:

L. rabica L. gerbilli L. turanica

ودردنیای جدید :

L. hertigi L. enrietti

L. deanei L. aristidesi