Archive of SID

تشخیص زودرس لیشمانیوز احشایی با استفاده از خون محیطی و روش واکنش زنجیره ای پلیمراز

افسانه مودب*، دکتر عبدالوهاب البرزی**، دکتر عباس بهزاد بهبهانی ***، دکتر فرهاد شاهیان جهرمی****
دکتر محمدحسن معتضدیان *****

چکیده:

لیشمانیوز احشایی یا کالا آزار، یک عفونت انگلی داخل سلولی کبد، طحال و مغزاستخوان با انتشار جهانی است. درصورت عدم درمان، مرگ ومیر نسبتاً بالا بوده و حتی در مواردی نیز با درمان مناسب و به موقع این میزان تا ۱۵ درصد گزارش شده است. در حال حاضر، در ایران تشخیص قطعی بیماری با انجام آزمایشاتی ازقبیل اندازه گیری عیارآنتی بادی با روش فلورسنت غیر مستقیم (IFA) و مشاهده اجسام لیشمن در گسترش مغز استخوان می باشد. گرفتن نمونه مغز استخوان یک روش تهاجمی، با تخصص بالا و موجب به مخاطره افتادن بیمار می شود و تعداد کمی از بیماران نیز تشخیص داده می شوند. به دلیل وجود مواردی از مثبت کاذب (False Positive) و منفی کاذب (False Negative) درروش های فوق، در این مطالعه از روش PCR برای تشخیص ژنوم انگل لیشمانیا در خون محیطی بیماران بکارگرفته شد ونتایج آن باروش IFA مقایسه گردید.

خون محیطی و سرم ۶۷ بیمار مشکوک به لیشمانیوز احشایی جمع آوری شد و آزمایش PCR بر روی خون محیطی و آزمایش IFA بر روی سرم این بیماران انجام گرفت. استخراج DNA با استفاده از lysis buffer و روش جوشاندن انجام گردید. برای انجام PCR از پرایمر های اختصاصی13B و 13A که ۱۲۰ جفت بازی DNA minicircle کینتوپلاست لیشمانیا را تکثیر میکند، استفاده گردید. آزمایش مشاهده مستقیم میکروسکپی انگل لیشمانیا در نمونه مغز استخوان برای ٤٠ بیمار نیز انجام گردید.

برای۲۷ بیمار با داشتن علایم بالینی، یافته های آزمایشگاهی و جواب به درمان تشخیص قطعی لیشمانیوز احشایی داده شد. از میان ۲۷ بیمار فوق، ۲۳ بیمار دارای آزمایش PCR مثبت بود (۸۵/۲٪ حساسیت) . در ٤٠ بیمار باقیمانده با سایر عفونتها آزمایش PCR منفی بود (۱۰۰٪ اختصاصیت). حساسیت و اختصاصیت روش IFA در تشخیص بیماری لیشمانیوز احشایی به ترتیب برابر۶۳٪ و ۸۲/۵٪ بوده است و تفاوت معنی دار آماری(P-value<۰/۰۱) بین اختصاصیت این دو روش وجود داشت.

نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان دهنده بالا بودن اختصاصیت و حساسیت روش غیر تهاجمی PCR و همچنین توانایی تشخیص لیشمانیوز احشایی در مراحل اولیه توسط این روش است. بنابراین روش PCR یک آزمایش با ارزش جهت تشخیص سریع بیماری لیشمانیوز احشایی در مقایسه با روش های IFA میباشد.

کلید واژه ها : لیشمانیوز احشایی ـ تشخیص / واکنش زنجیره ای پلیمراز

* عضو هیأت علمی گروه میکروبشناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز
** استاد گروه کودکان دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز
*** استادیار گروه ویروس شناسی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز
**** دکتری حرفه ای پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز
***** دانشیار گروه انگل شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز
www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه :

لیشمانیوز احشایی (Visceral leishmaniasis) یا کالا آزار (Kala-azar) ، یک عفونت انگلی درون سلولی کبد، طحال ومغزاستخوان است که توسط لیشمانیا دانووانی ، لیشمانیا اینفنتوم و لیشمانیا شاگاسی ایجاد می گردد و بصورت اندمیک در نقاط مختلف دنیا دیده می شود. در ایران اکثر مطالعاتی که بر روی این بیماری صورت گرفته است درشهر شیراز جنوب غربی استان فارس و در مشکین شهر شمال غربی کشور می باشد. این بیماری در ایران اکثراً در بچه ها مشاهده می گردد(۱). علائم بیماری بالینی در اکثر موارد شامل تب های نامنظم، ضعف، کم شدن وزن، بزرگ شدن طحال و کبد است که همراه با کم خونی می باشد. در صورت عدم تشخیص صحیح و عدم درمان ، مرگ و میر نسبتاً بالا بوده و حتی در مواردی نیز با درمان مناسب و به موقع این میزان تا ۱۵ درصد گزارش شده است (۲).

درحال حاضر، در ایران تشخیص قطعی بیماری با انجام آزمایشاتی از قبیل اندازه گیری عیار آنتی بادی با روش فلورسنت غیرمستقیم(IFA(Indirect fluorescent antibody و در مواردی با مشاهده فرم آمستیگوت انگل با روش رنگ آمیزی گیمسا و یا رایت بر روی نمونه های گرفته شده ازمغز استخوان بیماران صورت می گیرد. روش اخیر یک روش تهاجمی و پرمخاطره برای بیمار بوده و به علت پایین بودن حساسیت آزمایش، تعداد کمی از بیماران نیز تشخیص داده می شوند. مواردی از مثبت کاذب (False-Positive) و منفی کاذب (False- Negative) در استفاده از روش های فوق ، وجود دارد (۳،۴).

در سالهای اخیر آزمایش واکنش زنجیره ای پلیمراز (polymerase chain reaction) PCR به عنوان یک روش سریع همراه با حساسیت واختصاصیت بالا در تشخیص انواع بیماریها از جمله لیشمانیوز احشایی مورد استفاده و تحقیق قرار گرفته است (۵،۶).

انجام آزمایش PCR برای تشخیص لیشمانیوز پوستی و احشایی از سال ۱۹۹۰ به بعد، گزارش شده است این آزمایش برروی نمونه های خون، مغز استخوان، طحال و غدد لنفاوی بیماران انجام گرفته است (۵).

مطالعات انجام شده در مورد روش PCR در تشخیص بیماری لیشمانیوز احشایی در نقاط اندمیک جهان نشان دهندهٔ حساسیت و اختصاصیت بالای این آزمایش است(۷،۸).

در این مطالعه اهمیت کاربرد روش PCR در تشخیص سریع DNA انگل لیشمانیا در خون محیطی و مقایسه آن با روش IFA ، علائم بالینی بیمار و پاسخ به درمان مورد بررسی قرار گرفته است.

روش کار:

در یک دوره ۲۰ ماهه ، خون محیطی و سرم ۶۷ بیمار مشکوک به لیشمانیوز احشایی که به بیمارستانهای وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شیراز مراجعه کرده بودند، جمع آوری شد. از میان ۶۷ نفر بیمار، تعداد ۲۵ نفر مونث (با سنین ۵ ماه الی ۱۵ سال و با میانگین ۳۹ ماه) و تعداد ۴۲ نفر مذکر (با سنین ۳ ماه الی ۳۴ سال و با میانگین ۶۵ ماه) بودند. محل جغرافیایی زندگی این افراد شامل مناطق مختلف استان فارس، کهکیلویه و بویراحمد و بوشهر بود که به مراکز درمانی در شیراز مراجعه کرده بودند.

علایم بیماران بصورت تب، بزرگی طحال و کبد، رنگ پریدگی و بی اشتهایی بود. تمام اطلاعات آزمایشگاهی و بالینی بیماران توسط پزشک و با مطالعه پرونده هر یک از بیماران بطور جداگانه تهیه گردید. برای انجام آزمایش IFA از یک میلی لیتر سرم تهیه شده از بیماران و برای انجام آزمایش PCR از یک میلی لیتر خون تام (Whole blood) محتوی EDTA (Ethylen Diamine Tetra Acetic acid) که به طور همزمان تهیه شده بودند، استفاده گردید. آزمایش مشاهده مستقیم میکروسکپی انگل لیشمانیا در نمونه های مغز استخوان برای ۴۰ بیمار انجام گردید.

استخراج DNA با استفاده از lysis buffer حاوی [۰/۳۲مول سوکروز، ۱۰ میلی مول(Tris-HCl (pH=7.5 ، ۵ میلی مول کلرور منیزیم و Triton-x 100 1%] و روش جوشاندن انجام گردید. برای انجام PCR از پرایمرهای اختصاصی 13A و 13B (۹) که ۱۲۰ جفت بازی ناحیه ثابت حلقه کوچک DNA (DNA minicircle) کینتوپلاست لیشمانیا را تکثیر میکند، استفاده گردید. محصول PCR با روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز و رنگ آمیزی با ایتیدیوم بروماید مشخص گردید. همراه با کنترل مثبت و منفی و یک DNA-Marker 100 bp (استاندارد DNA) آزمایش انجام شد.

برای تعیین حساسیت تست PCR از روش dilution

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده گردید. در این روش رقتهای مختلف انگل لیشمانیا (پروماستیگوت) با تعداد مشخص و شمارش شده بصورت 10-fold تهیه و از هر رقت به نمونه خون سالم (نرمال) اضافه گردید و تمام مراحل آزمایشPCR بر روی آنها انجام شد.

نتایج :

از ۶۷ نفر بیمار مشکوک به لیشمانیوز احشایی، ۲۷نفر (۴۰/۳٪) از آنها از نظر علایم کلینیکی، آزمایشگاهی، جواب به درمان مبتلا به لیشمانیوز احشایی تشخیص داده شده بودند و ۴۰ نفر بقیه (۵۹/۷٪) مبتلا به بیماریهای دیگر بودند. از میان ۲۷ بیمار مبتلا به لیشمانیوز احشایی۱۲نفر(۴۴/۴٪) مونث و۱۵نفر(۵۵/۶٪) مذکر بودند و سن آنها بین ۵ ماه تا ۸ سال بود.

علائم و یافته های بالینی در بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشایی به ترتیب فراوانی در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱: علائم و یافته های بالینی در ۲۷ بیمار مبتلا به لیشمانیوز احشایی

علایم و یافته های بالینی	تعداد بیماران	درصد
طحال بزرگ	۲۷	۱۰۰
تب	۲۵	۹۲/۶
کبد بزرگ	۲۳	۸۱/۵
کاهش اشتها	۱۳	۴۸/۱
سرفه	۱۲	۴۴/۴
رنگ پریدگی	۱۲	۴۴/۴
کاهش وزن	۱۰	۳۷
استفراغ	۸	۲۹/۶
اسهال	۷	۲۵/۹
بزرگی شکم	۷	۲۵/۹
زردی	۴	۱۴/۸

در این بیماران بزرگی طحال و کبد براساس گزارش سونوگرافی و معاینهٔ بالینی و تب از دمای بالای ۳۸ درجه سانتی گراد تعیین گردیده است. سه علایم بیماری، بزرگی طحال و کبد و تب در بیش از ۸۱٪ این بیماران مشاهده گردید.

آزمونهای آزمایشگاهی در بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشایی به ترتیب فراوانی در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲: یافته های آزمایشگاهی در ۲۷ بیمار مبتلا به لیشمانیوز احشایی

آزمونها	تعداد بیماران	درصد
هموگلوبین < 10 mg/dl	۲۵	۹۲/۶
آنزیم کبدی SGOT > 50	۱۸	۶۶/۷
گلبول سفید خون < 4500	۱۵	۵۵/۶
آلبومین / گلبولین > 1	۱۳	۴۸/۱
آنزیم کبدی SGPT > 50	۱۳	۴۸/۱
پلاکت < 100,000/ mm^3	۸	۲۹/۶

از ۲۷ نفر از بیمارانی که تشخیص نهایی آنها لیشمانیوز احشایی بود ۲۱ نفر با داروی گلوکانتیم و۶ نفر بقیه به علت عدم پاسخ به گلوکانتیم باآمفوتریسین B درمان شدند. پاسخ به دارو در این بیماران همراه با کاهش و قطع تب بوده است.

در این مطالعه سرم ۶۷ بیمار مشکوک به لیشمانیوز احشایی از نظر وجود آنتی بادی بر علیه انگل لیشمانیا با روش IFA مورد آزمایش قرار گرفت و عیار آنتی بادی برابر یا بیشتر از ۱:۱۲۸ ، بعنوان تیترمثبت تلقی شد. همچنین خون تام این بیماران از نظر وجود DNA انگل لیشمانیا با روش PCR مورد آزمایش قرار گرفت. در این روش مشاهده باند ۱۲۰ جفت بازی (120 bp) در ژل الکتروفورز نشان دهندهٔ مثبت بودن آزمایش بود.

برای تعیین حساسیت تست PCR با اضافه کردن رقت های مختلف انگل لیشمانیا به خون، آزمایشPCR انجام شد. در این روش مطالعه شده ۱۰ ملکول DNA قابل تشخیص می باشد.

در نتایج حاصله از آزمایشات IFA و PCR در ۶۷ بیمار مشکوک به لیشمانیوز احشایی ، ۱۳ بیمار (۱۹/۴٪) هر دو آزمایش فوق مثبت، ۳۳ نفر(۴۹/۳٪) هر دو آزمایش منفی و بقیه بیماران ۲۱ نفر (۳۱/۳٪) فقط یکی از دو آزمایش فوق مثبت بوده است.

نتایج حاصل از دو آزمایش IFA و PCR در ۲۷ بیمار مورد مطالعه که با داشتن علائم بالینی ، آزمایشگاهی و جواب به درمان، مبتلا به لیشمانیوز احشایی تشخیص داده شده بودند در جدول ۳ نشان داده شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳ : نتایج حاصل از آزمایشات IFA و PCR در ۲۷ بیمار مبتلا به لیشمانیوز احشایی

تعداد بیماران	در صد	IFA	PCR
۱۳	۴۸/۲	+	+
۱۰	۳۷	-	+
۴	۱۴/۸	+	-

جدول ۴ نشان میدهد که از بین ۶۷ بیمار مورد مطالعه ۲۴ نفر آنها (۳۵/۸٪) دارای IFA ، با عیار آنتی بادی برابر با بیشتر از ۱۲۸ : ۱ بوده اند که از این تعداد ۱۷ نفر آنها (۷۰/۸٪) مبتلا به لیشمانیوز احشایی بوده اند و ۷ نفر (۲۹/۲٪) مبتلا به لیشمانیوز احشایی نبوده اند. در بین ۷ بیمار که مبتلا به لیشمانیوز احشایی نبودند دو نفر (۲۸/۶٪) بیمار مبتلا به مالاریا، دو نفر (۲۸/۶٪) دارای تب ناشناخته، یک نفر (۱۴/۳٪) سرطان خون از نوع Acute Lymphocyte Leukemia ، یک نفر (۱۴/۳٪) بروسلوز، یک نفر (۱۴/۳٪) بیماری مزمن کبدی داشتند.

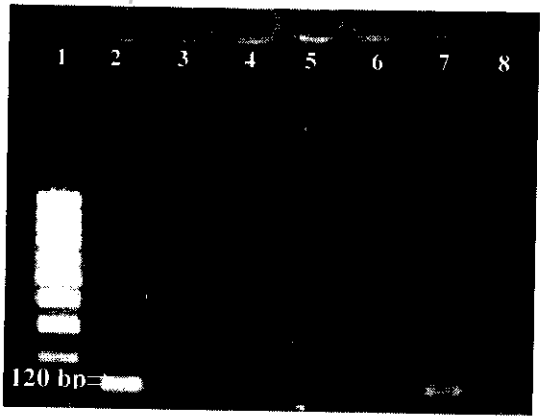
جدول ۴ : حساسیت ،اختصاصیت ، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی آزمایشات IFA و PCR در ۶۷ بیمار مورد مطالعه

آزمایشات		بیماران مشکوک به لیشمانیوز احشایی (n=۶۷)		حساسیت (درصد)	اختصاصیت (درصد)	ارزش اخباری مثبت (درصد)	ارزش اخباری منفی (درصد)
		مثبت حقیقی	منفی حقیقی				
IFA	مثبت	۱۷	۷	۶۳	۸۲/۵	۷۰/۸	۷۶/۷
	منفی	۱۰	۳۳				
PCR	مثبت	۲۳	۰	۸۵/۲	۱۰۰	۱۰۰	۹۰/۹
	منفی	۴	۴۰				

نتایج حاصله از جدول فوق نشان می دهد که حساسیت آزمایش IFA و PCR با تشخیص نهایی کلینیکی بیماران در ۶۷ بیمار بترتیب ۶۳٪ و ۸۵/۲٪ واختصاصیت روشهای فوق با تشخیص نهایی کلینیکی بیماران در ۶۷ بیمار بترتیب ۸۲/۵٪ و ۱۰۰٪ می باشد. با انجام تست آماری مقایسه نسبتها (Comparison of proportions) وبا P value< ۰/۰۱ اختصاصیت آزمایش IFA و PCR از نظر آماری تفاوت معنی دار وجود دارد.

تصویر ۱ نتایج PCR بر روی نمونه های خون بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشایی، مالاریا و بروسلوز را نشان میدهد.

www.SID.ir



تصویر ۱: نتایج PCR بر روی نمونه های خون بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشایی، مالاریا و بروسلوز

۱- DNA Marker 100 bp
۲- بیمار مبتلا به لیشمانیوز احشایی: PCR مثبت و IFA با تیتر ۱:۱۲۸ مثبت
۳- بیمار مبتلا به لیشمانیوز احشایی: PCR مثبت و IFA منفی
۴- بیمار مبتلا به لیشمانیوز احشایی: PCR مثبت و IFA منفی
۵- بیمار مبتلا به مالاریا: PCR منفی و IFA با تیتر ۱:۱۲۸ مثبت (با آنتی ژن لیشمانیا)
۶- بیمار مبتلا به بروسلوز: PCR منفی و IFA با تیتر ۱:۱۲۸ مثبت (با آنتی ژن لیشمانیا)
۷- کنترل مثبت: (DNA لیشمانیا) PCR مثبت
۸- کنترل منفی: PCR منفی

بحث:

لیشمانیوز احشایی یک عفونت انگلی است که بصورت اندمیک در نقاط مختلف دنیا دیده می شود. این بیماری در ایران اکثراً در بچه ها مشاهده می گردد. پراکندگی سنین آلودگی به این بیماری در مناطق اندمیک بین ۶ ماهگی تا ۴ سالگی گزارش شده است(۱).در صورت عدم تشخیص صحیح و عدم درمان ، مرگ و میر نسبتاً بالا بوده و حتی در مواردی نیز با درمان مناسب و به موقع این میزان تا ۱۵ درصد گزارش شده است (۲). در حال حاضر، در ایران تشخیص بیماری با انجام آزمایشاتی از قبیل اندازه گیری عیار آنتی بادی با روش IFA و در مواردی با مشاهده فرم آمستیگوت انگل در نمونه های گرفته شده از مغز استخوان بیماران که یک روش تهاجمی است، صورت می گیرد.

از میان ۲۷ بیماری که با تشخیص قطعی لیشمانیوز احشایی بستری و درمان شده بودند، آزمایشات PCR برای ۲۳ نفر از آنها (۸۵/۲٪) مثبت و در ۴ نفر (۱۴/۸٪) منفی گزارش گردید. آزمایش IFA برای همین تعداد

Archive of SID

بیمار به ترتیب ۱۷ نفر (۶۳٪) مثبت و در ۱۰ نفر (۳۷٪) منفی بوده است. در مطالعه ای که با آزمایشPCR برروی نمونه های IFA منفی انجام گردید همه آنها(۱۰۰٪) وجود DNA انگل را در خون بیمار نشان دادند. یکی از مواردی که می تواند بعنوان علت این مسئله بیان نمود پائین بودن عیار آنتی بادی بیمار و حساسیت پائین تست IFA د ر مقایسه با PCR می باشد. همچنین آزمایش PCR در مراحل اولیه بیماری به علت وجود DNA انگل در خون می تواند مثبت شود اما تشخیص آنتی بادی در خون با روشIFA نیاز به زمان بیشتری دارد که می تواند از دلائل دیگر منفی شدن آزمایش IFA گردد. برای مثال در یکی از بیماران دو نمونه سرم و خون به فاصله ۱۴ روز برای انجام آزمایش PCR وIFA در این تحقیق مورد آزمایش قرار گرفت. نمونه اول با روش IFA منفی ولی با روش PCR مثبت گردید.نمونهٔ دوم که دو هفته پس از نمونه اول گرفته شده بود توسط هر دو روش مثبت گردید که این خود دلیلی بر مثبت شدن آزمایش زود هنگام PCR در مقایسه با IFA می باشد .

در بیمار دیگر مبتلا به لیشمانیوز احشایی نتایج IFA منفی ولی آزمایش مغزاستخوان از نظر انگل مثبت وPCR نیز مثبت بود که ممکن است بعلت اشکال در سیستم ایمنی بدن بیمار باشد که نتوانسته است آنتی بادی بر علیه انگل لیشمانیا تولید نماید.

در مطالعه‌ای که درجنوب سودان درسال۹۵-۱۹۹۴ انجام گرفته ، روش PCR بر روی نمونه های مغز استخوان، گره های لنفاوی و خون محیطی ۴۹۲ بیمار انجام گرفت که نتایج نشان دهندهٔ حساسیت بیشتر این روش نسبت به روش مشاهده مستقیم انگل در زیر میکروسکوپ به خصوص در نمونه های مغز استخوان و گره های لنفاوی بوده است. در این تحقیق ، حساسیت نمونه های خونی که بر روی فیلتر کاغذی گرفته شده بود بیشتر از نمونه های خونی نگهداری شده در EDTA، می باشد(۷).

در مطالعه دیگری که در هندوستان بر روی خون ۳۹ بیمار مشکوک به درگیری اخیر لیشمانیوز احشایی انجام شد، سه روش دیدن میکروسکوپی انگل، روش ایمونولوژی ELISA و روش PCR با هم مقایسه گردید. از این بیماران، ۱۹ بیمار (۵۰٪) بوسیله هر سه تست منفی یا مثبت گزارش شده ۱۱ بیمار (۲۸٪) توسط مشاهده مستقیم میکروسکوپی منفی اما توسط ELISA و PCR مثبت گزارش گردید و در ۷ بیمار فقط PCR مثبت گردیده ، که نشان دهندهٔ حساسیت بالای روش PCRدر خون محیطی در بیمارانی که اخیراً دچار لیشمانیوز احشایی شده اند، بود (۸).

در مطالعهٔ هم زمان در سه کشور کنیا، برزیل و هندوستان، روش PCR بر روی خون محیطی انجام گردیده است. از ۶۳ بیمار که خون آنها قبل از درمان مورد آزمایش قرار گرفت ۵۷ بیمار دارای PCR، مثبت بودند که نشان دهندهٔ ۹۰درصد حساسیت این آزمایش می باشد. از ۴۰ فرد سالمی که خون آنها نیز مورد آزمایش قرار گرفت همگی دارای PCR ، منفی بودند که نشان دهندهٔ ۱۰۰ درصد اختصاصیت برای این آزمایش است(۷).

حساسیت آزمایشIFA و PCR با تشخیص نهایی کلینیکی بیماران در ۶۷ بیمار بترتیب ۶۳٪ و ۸۵/۲٪ و اختصاصیت روشهای فوق با تشخیص نهایی کلینیکی بیماران در ۶۷ بیمار بترتیب ۸۲/۵٪ و ۱۰۰٪ می باشد. با انجام تست آماری مقایسه نسبتها و با P.value< ۰/۰۱ اختصاصیت آزمایش IFA و PCR از نظر آماری تفاوت معنی دار وجود دارد. که خود تأئیدی بر ارجحیت روش PCR نسبت به IFA می باشد.

روش PCR بدلایل زیر بر روش IFA در کاربرد تشخیص آزمایشگاهی لیشمانیوز احشایی ارجحیت دارد.

۱- حساسیت روش PCR بیشتر از تستIFA می باشد.

۲- اختصاصیت روش PCR بیشتر از روشIFA می باشد و فقط بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشایی را تشخیص میدهد.

۳- با روش PCR بیمارانی که در مراحل اولیه لیشمانیوز احشایی هستند قابل تشخیص می باشد اما این امکان با روش IFA مقدور نیست.

۴- با روش PCR لیشمانیوز احشایی در بچه های زیر یکسال بعلت اینکه دارای سیستم ایمنی کامل نیستند قابل تشخیص می باشد.

۵- تشخیص لیشمانیوز احشایی در افرادیکه بنحوی دچار نقص سیستم ایمنی هستند با روش PCR بیشتر از روش IFA قابل تشخیص می باشد.

با مطالعه و بررسی دو روش IFA و PCR در تشخیص

www.SID.ir

Archive of SID

آزمایشگاهی لیشمانیوز احشایی نتایج زیر بدست آمد:
۱- حساسیت روش PCR از روش IFA بیشتر می باشد در نتیجه افراد بیمار بیشتری را می توان تشخیص داد.
۲- روش PCR بعلت عدم وجود، False positive تنها بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشایی را تشخیص میدهد.
۳- بیمارانی که در مراحل اولیه لیشمانیوز احشایی هستند به کمک روشPCR میتوان آنها را تشخیص داد.
۴- قابلیت تشخیص لیشمانیوز احشایی در اطفال زیر یکسال بعلت اینکه سیستم ایمنی کامل ندارند با روش PCR بیشتر است.

سپاسگزاری:

بودجه این پروژه توسط دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تامین گردیده است که بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تشکر و قدردانی می گردد. همچنین از همکاری آقایان محمود کلانی و جلیل نصیری کارشناسان محترم که در انجام آزمایشات IFA ما را یاری داده اند سپاسگزاری می گردد.

منابع :

1. Edrissian GH, Nadim A, Alborzi A, Ardehali S. Kala-azar: The Iranian experience. Arch Irn Med 1998; 1(1): 22-26.
2. WHO. Tropical Disease Research Progress 1995-96. Thirteenth program report. UNDP/World Bank/ WHO special program for research and training in tropical disease (TDR). 1997: 102.
3. Edrissian GH , Darabian PA. A comparison of enzyme linked immunosorbent assay and indirect immunofluorescent antibody test in the serodiagnosis of leishmaniasis in Iran. Trans R Soc Trop Med hyg 1979; 73: 289-292.
4. Kohanteb J, Afjeh-ee A, Ardehali SM. Presence of anti-Leishmania antibody in sera of patients with Malaria. Iranian congress of Malaria, 22-26 Feb, Zahedan, Iran, 1992.
5. Adhya S, Chaherjee M, Hassasn MQ, Mukherjee S, Sen S. Detection of Leishmania in the blood of early kala-azar patients with the aid of the PCR. Trans R Soc Trop Med Hyg 1995; 89: 622-628.
6. Osman OF, Oskam L, Zigistra E, Kroon NCM, Schoone GJ, Khalil EAG, et al. Evaluation of PCR for diagnosis of visceral leishmaniasis. J Clin Microbiol 1997; 35: 2454-2457.
7. Alborzi A, Mohammad Hosieini B, Masoumi Givi F. Asymptomatic kala-azar and rule of nutrition in endemic areas. Current Problems in Ped Conf Commemorating Dr Gharib 1989; 11: 467-75.
8. Nuzum E, White III F, Thakur C, Dietze R Wages J, Grogl M. Diagnosis of symptomatic visceral leishmaniasis by use of PCR on patient blood. J Infect Disease 1995; 171-751.
9. Rodgers MR, Popper SJ. Amplification of kinetoplast DNA as a tool in the detection and diagnosis of Leishmania. Exp Parasitol 1990; 71: 267-275.

www.SID.ir