Archive of SID

تشخیص آنتی ژن های لیشمانیا اینفنتوم در ادرار با استفاده از روش KAtex و مقایسه ی آن با روش های سرولوژی

شهرام خادم وطن[1] - عبدالصمد مظلومی[2] - اسماعیل فلاح[2] - جاسم ساکی[3]

چکیده

زمینه و هدف: لیشمانیوز احشایی حداقل در سه استان اردبیل، فارس و آذربایجان شرقی به صورت اندمیک وجود دارد. بیماری در کشور ما از نوع مدیترانه ای بوده و بیشتر کودکان را گرفتار می سازد. بنابراین تشخیص اولیه و درمان به موقع بیماری می تواند از مرگ و میر بالای آن (95 درصد) جلوگیری نماید. به دلیل تهاجمی بودن روش بیوپسی از مغز استخوان و طحال و محدودیت سایر روش ها، تلاش های زیادی صورت گرفته تا از تست های ساده تر در تشخیص لیشمانیا اینفنتوم در کودکان استفاده شود. تست KAtex با شناسایی آنتی ژن ها در ادرار از جمله این موارد است. هدف از این تحقیق ارزیابی KAtex در تشخیص لیشمانیوز احشایی در مناطق اندمیک و مقایسه ی آن با روش های سرولوژیک معمول (IFA, DAT, ELISA IgG & IgM) به منظور امکان جایگزینی با روش های مذکور می باشد.

روش تحقیق: این مطالعه از نوع اپیدمیولوژی توصیفی بوده و در مدت پانزده ماه در روستاهای توابع شهرستان های اهر و کلیبر استان آذربایجان شرقی که بیماری در آن ها اندمیک می باشد، انجام شد. کیت KAtex برای تشخیص لیشمانیوز احشایی در 72 فرد اثبات شده و مشکوک به بیماری کالا آزار و برای یافتن افراد مبتلا در بین 313 کودک ساکن مناطق اندمیک اهر و کلیبر (آذربایجان شرقی) در شمال غرب ایران به کار گرفته شد. برای یافتن توافق تست ها و اندکس های اعتبار و اعتماد، نتایج تست KAtex با دیگر تست های سرولوژیک مقایسه شد. برای آنالیز داده ها از روش های آماری kappa و McNemar استفاده شد.

یافته ها: از 385 نمونه ی ادرار تعداد 38 نمونه (9/8 درصد) با تست KAtex مثبت بودند. تست سریع KAtex دارای حساسیت 77/7 درصد و ویژگی بالا (98/2 درصد) در تشخیص لیشمانیوز احشایی در انسان بود. بالاترین توافق KAtex با تست Elisa-IgM (kappa=0/834، p=0/549) و پایین ترین توافق KAtex با تست DAT (kappa=0/400، p<0/001) بود. هم چنین این تست هیچ گونه واکنش متقاطع با نمونه های ادرار بیماران مبتلا به سل، توکسوپلاسموز و بروسلوز نداشت.

نتیجه گیری: تست KAtex سریع، غیر تهاجمی و ساده است. در انجام آن به تخصص ویژه و دستگاه های پیچیده نیاز نیست و می تواند برای تشخیص لیشمانیوز احشایی در مناطق اندمیک به کار گرفته شود. هم چنین چون این تست قادر است بیماری حاد، تحت حاد و پس از عفونت را از هم افتراق دهد، نتایج آن می تواند برای تشخیص موارد اثبات نشده ی لیشمانیوز احشایی، تکمیل کننده ی DAT باشد.

کلمات کلیدی: ادرار؛ ایران؛ تشخیص؛ لیشمانیوز احشایی

افق دانش؛ فصلنامه ی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گناباد (دوره ی 17؛ شماره ی 1؛ بهار 1390)

دریافت: 1389/4/30 **اصلاح نهایی: 1389/10/16** **پذیرش: 1389/12/18**

1- استادیار، دکترای انگل شناسی، دپارتمان پارازیتولوژی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور

2- دانشیار، دکترای انگل شناسی، دپارتمان پارازیتولوژی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

3- **نویسنده ی مسؤول؛** استادیار، دکترای انگل شناسی، دپارتمان پارازیتولوژی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور

آدرس: اهواز- دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور- دانشکده ی پزشکی- دپارتمان پارازیتولوژی

تلفن: 0611-3367546 **نمابر:** 0611-3332036 **پست الکترونیکی:** jasem.saki@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

لیشمانیازیس یک عفونت انگلی بوده و عامل به وجود آورنده ی آن تک یاخته ای به نام لیشمانیا می باشد. کشور ایران به عنوان نقطه ی اندمیک بیماری به شمار می آید. هر دو فرم لیشمانیورز احشایی و پوستی در ایران وجود دارند که لیشمانیورز احشایی ایجاد شده از نوع مدیترانه ایست (1,2). تشخیص صحیح یکی از قدم های مهم در کنترل و پیشگیری از بیماری است. به همین منظور محققین همیشه به دنبال روش سریع و دقیق هستند که بتوانند آن را در میدان عملیاتی به کار برند. شباهت علائم کلینیکی بیماری هایی مانند مالاریا، تیفوییید و توبرکلوزیس با لیشمانیوز احشایی تشخیص این بیماری را پیچیده می نماید. از سال 1952 به بعد در گوشه و کنار کشورمان مواردی از لیشمانیوز احشایی بر مبنای علایم کلینیکی تشخیص داده و پس از آن نیز با روش های مختلف IFA وDAT شناسایی و گزارش شده است (3). به طور کلی لیشمانیوز احشایی در استان های مختلف تک گیر بوده و حداقل در سه استان اردبیل، فارس و آذر بایجان شرقی به صورت اندمیک وجو دارد (4,5). در کشورمان، کودکان زیر 12 سال بیشتر گرفتار می شوند (6). این بیماری از بیماری های مهم و خطرناک عفونی به شمار می آید. به طوری که در کودکان مبتلا اگر درمان نشوند تا 95 درصد مرگ و میر می دهد. متأسفانه این بیماری در اکثر موارد بدون علامت یا دارای علایم خفیفی است. علایم ایجاد شده در اثر این بیماری شامل بزرگی طحال و کبد، تب و کاهش سلول های ایمنی و لکوسیتوز می باشد که این علایم در بیماری های مختلف مشترک است. به همین جهت تشخیص درست بیماری حائز اهمیت است. بیوپسی از مغز استخوان و دیدن انگل به روش مستقیم زیر میکروسکوپ و نیز کشت انگل در محیط کشت رایج ترین و مطمئن ترین روش های تشخیص به شمار می آید (7). روش مذکور یک روش تهاجمی محسوب می شود و ضمن ایجاد مزاحمت برای بیماران، به افرادی مجرب نیز نیاز دارد. میزان حساسیت آن هم بالا نیست (10-7). از روش های تشخیصی دیگر جستجوی آنتی بادی علیه *L. infantum* می باشد. این روش دارای واکنش متقاطع با دیگر عفونت ها بوده و قادر به شناسایی موارد جدید از قدیم نیست. علاوه بر آن، این روش در افرادی مانند مبتلایان به ایدز که پاسخ آنتی بادی ضعیفی در مقابل عفونت دارند مفید نیست. در سال های اخیر روش ملکولی PCR برای تشخیص این عفونت به کار رفت ولی میزان حساسیت این روش در تشخیص انگل ها در خون فقط 70 درصد است (11). علاوه بر آن با روش PCR ممکن است افراد سالم نیز به عنوان مثبت گزارش شوند (12). با توجه به نقیصه های ذکر شده در روش های فوق، محققین در سال های اخیر برای تشخیص لیشمانیوز احشایی به ردیابی و شناسایی آنتی ژن روی آوردند که این روش از ویژگی بالاتری نسبت به روش های مبتنی بر ارزیابی آنتی بادی برخوردار است (13). به همین جهت در این مطالعه از روش KAtex (لاتکس اگلوتیناسیون) که از روش های جستجوی آنتی ژن در ادرار مبتلایان می باشد و انجام آن نیز آسان و به صرفه است استفاده شد. هدف از این مطالعه ارزیابی تست KAtex در تشخیص لیشمانیوز احشایی در مناطق اندمیک کلیبر و اهر و جایگزینی این تست با روش های سرولوژیک رایج در تشخیص بیماری بود.

روش تحقیق

این مطالعه از نوع اپیدمیولوژی توصیفی بوده و به مدت پانزده ماه در استان آذربایجان شرقی انجام شد. در این تحقیق از 35 روستای استان آذربایجان شرقی بر اساس فرمول آماری برآورد حجم نمونه، تعداد 385 نمونه ی ادرار و خون کودکان زیر 10 سال تهیه شد. نمونه ها شامل 313 نمونه ی تصادفی از روستای کلیبر و اهر و 72 نمونه از افراد با سابقه ی بیماری مربوط به آن مناطق (54 نمونه مربوط به افراد با سابقه ی ابتلا به لیشمانیوز احشایی و 18 نمونه از افراد مبتلا به شکل حاد بیماری لیشمانیوز احشایی که قبلاً با روش مستقیم استاندارد انگل شناسی بیماری آن ها تأیید شده بود) می باشند. در این بین نیز 57 نمونه از افراد سالم ساکن در مناطق غیر اندمیک به عنوان گروه کنترل منفی و 14 نمونه از افراد مبتلا به توکسوپلاسموزیس، سل و بروسلوز جهت بررسی واکنش متقاطع این بیماری ها با لیشمانیوز احشایی جمع آوری شدند. کلیه ی نمونه ها با روش های

www.SID.ir

Archive of SID

DAT، IFA، ELISA وKAtex آزمایش شدند و نتایج حاصل شده با هم دیگر مورد مقایسه قرار گرفتند. در روش KAtex کیت ساخت شرکت Kalon Biological Ltd از کشور انگلستان مورد استفاده قرار گرفت و بر اساس دستور العمل شرکت سازنده، آزمایش انجام شد. در این روش ابتدا 1 میلی لیتر از هر نمونه ی ادرار را برداشته و به منظور حذف مواد ناپایدار که امکان ایجاد نتایج کاذب می کردند به مدت 5 دقیقه در دمای 100 درجه سانتیگراد حرارت داده شدند. نمونه های حرارت داده شده و معرف های کیت قبل از آزمون به دمای آزمایشگاه رسانده شدند. 50 میکرولیتر از ادرار حرارت داده شده را روی لام شیشه ای مخصوص آزمایش گذاشته و یک قطره ی از محلول لاتکس روی آن اضافه شد. اسلایدها روی روتاتور حرکت دورانی داده شدند تا مخلوط کاملاً یکنواختی به دست آید. به طور همزمان یک قطره ی کنترل منفی و یک قطره ی کنترل مثبت در کنار نمونه ها قرار داده شدند. پس از دو دقیقه، درجه ی اگلوتیناسیون به شرح زیر قرائت شد.

آگلوتیناسیون سه مثبت: ذرات لاتکس منعقد شده به مقدار زیاد در اطراف لبه ی منطقه واکنش دیده می شدند.

آگلوتیناسیون دو مثبت: ذرا ت منعقد شده نسبت به ذرات جدا از هم کاملاً قابل تشخیص بودند.

آگلوتیناسیون یک مثبت: انعقاد تنها در صورت مقایسه با کنترل منفی قابل تشخیص بود.

عدم آگلوتیناسیون: هیچ گونه انعقادی مشاهده نشد و محلول شیری رنگ بود. نتایج حاصل با نرم افزار SPSS نسخه ی 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و در این راستا دو روش آماری McNemar و Kappa به منظور مقایسه ی روش های مذکور به کار رفت.

یافته ها

از 385 نمونه ی ادرار تعداد 38 نمونه (9/8 درصد) مثبت بودند. اغلب نمونه های مثبت در گروه مذکر بودند. 23 نمونه (5/97 درصد) در مردها و 15 نمونه (3/89 درصد) در زن ها. هم چنین از این میان، بیشترین موارد مثبت با 10 نمونه (3/86 درصد) در گروه کودکان 2 سال بودند. روستای آتیکندی بیشترین موارد مثبت را داشتند. هم چنین در 72 نمونه ی تأیید شده و نیز بیماران بهبود یافته از لیشمانیوز احشایی، 28 مورد (38/8 درصد) با KAtex مثبت نشان دادند. نتایج حاصل شده با دیگر روش های سرولوژی در جدول آمده است (جدول 1).

جدول 1: تعداد و درصد نمونه های مثبت در آزمون های کاتکس و سرولوژیک

آزمون	کل نمونه ها (385)		72 نمونه با سابقه ی بیماری و موارد تأیید شده		18 نمونه ی مثبت تأیید شده	
	مثبت	درصد	مثبت	درصد	مثبت	درصد
Ktex	38	9/8	28	38/8	14	77/7
DAT	71	18/4	54	75	16	88/8
IFA	60	15/5	42	58/3	15	83/3
ELISA- IgG	56	14/5	42	59/7	17	94/4
ELISA-IgM	35	9/9	25	34/7	13	72/2

در 57 نفر گروه کنترل، آزمون KAtex منفی بود. این آزمون در 14 نمونه از 18 نمونه ی بیماران تأیید شده مثبت نشان داد (حساسیت روش 77/77 درصد). به منظور بررسی شدت آگلوتیناسیون، نمونه های مثبت به یک مثبت، دو مثبت، سه مثبت تقسیم بندی شدند. نمونه های سه مثبت دارای مقادیر زیاد آنتی ژن و بالاترین مقدار آگلوتیناسیون می باشند. نمونه هایی که هیچ گونه آگلوتیناسیونی در آن ها مشاهده نشد، به عنوان منفی در نظر گرفته شدند. از 72 نمونه بیماری تأیید شده و نیز بیمارانی با سابقه بیماری، 14 مورد (19/4 درصد) یک مثبت، 7 مورد (9/7 درصد) دو مثبت و 7 مورد (9/7 درصد) سه مثبت بودند (جدول 2).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول2: میزان شدت آنتی ژن ادراری در 72 نمونه ی با سابقه ی لیشمانیوز احشایی و بیماران مبتلا به حالت حاد بیماری

گروه سنی	آگلوتیناسیون یک مثبت	آگلوتیناسیون دو مثبت	آگلوتیناسیون سه مثبت	منفی	کل
1> سال	2	0	0	3	5
1 سال	1	2	3	17	23
2 سال	7	3	0	10	20
3 سال	1	0	1	5	7
4 سال	1	1	3	2	7
5 سال	1	0	0	3	4
6 سال	0	0	0	1	1
7 سال	0	0	0	2	2
8 سال	0	1	0	1	2
9 سال	1	0	0	0	1
کل	14	7	7	41	72

از 18 نمونه ی ادرار که بیماری آن ها با روش پارازیتولوژی محرز شده بود، 14 نمونه با KAtex مثبت نشان داد. 7 مورد (50 درصد) سه مثبت، 3 مورد (21/4 درصد) دو مثبت و 4 مورد (28/57 درصد) یک مثبت بودند. هم چنین بیشترین موارد سه مثبت در گروه یک سال و چهار سال بودند. با بررسی اعتبار تست های به کار رفته در این تحقیق مشاهده می شود که روش KAtex دارای حساسیت 77/77 درصد و ویژگی بالای 93/24 درصد، ارزش اخباری مثبت 93/3 درصد و ارزش اخباری منفی 93/3 درصد می باشد. اعتبار مربوط به سایر روش ها در جدول 3 آمده است.

جدول 3: مقایسه ی اعتبار آزمون های سرولوژیک و کاتکس در تشخیص لیشمانیوز احشایی

آزمون	اعتبار			
	حساسیت	ویژگی	ارزش اخباری مثبت	ارزش اخباری منفی
IFA	40	95/6	63/1	89/6
DAT	36/6	78/4	68/4	87/03
ELISA IgG	41	95	60	90
ELISA IgM	88	98	81	98/8
KAtex	77/77	98/24	93/3	93/3

همان گونه که در جدول نشان داده شده است کمترین میزان حساسیت (72/2 درصد) مربوط به روش ELISA IgM و کمترین ویژگی مربوط به ELISA IgG با 87/7 درصد می باشد.

بحث

لیشمانیوز احشایی به طور وسیعی در خاور میانه انتشار داشته و عامل به وجود آورنده ی آن لیشمانیا اینفنتوم می باشد (14). روش معمول برای تشخیص لیشمانیوز احشایی دیدن انگل در نمونه های تهیه شده از مغز استخوان و طحال است. حساسیت روش مغز استخوان 85-60 درصد می باشد (10-7). نمونه گیری از طحال نیز سخت بوده و ممکن است منجر به مرگ بیمار شود. با روش کشت می توان حساسیت تشخیص را بالا برد ولی آلودگی باکتریایی و قارچی، زمان بر بودن و نیاز به مهارت کافی، انجام این روش را دچار مشکل ساخته و حساسیت آنرا پایین می برد. از دیگر روش های تشخیص لیشمانیوز احشایی تزریق به حیوانات حساس از جمله هامستر است. ولی این روش هم زمان بر است و برای رسیدن به نتیجه مدت زیادی باید منتظر ماند (15). برای چند دهه،

www.SID.ir

Archive of SID

روش های سرولوژی مبتنی بر ردیابی ایمنوگلوبین های افزایش یافته در سرم افراد برای تشخیص لیشمانیوز احشایی به کار رفت. به طور مثال از روش فرمل- ژل و یا فرمالدهید که این روش ها غیر اختصاصی است (16)، فقدان ویژگی و حساسیت های متغیر، این روش ها را غیر قابل اعتماد ساخته است. روش های متداول برای تشخیص آنتی بادی شامل ثبوت مکمل، هماگلوتیناسیون غیر مستقیم، ایمنوفلورسنت غیر مسقیم و کانتر ایمنوالکتروفورزیس می باشد (16,17). با این وجود با توجه به محدودیت های عملی برای این روش ها در آزمایشگاه های غیر تخصصی، حساسیت و ویژگی آن ها پایین است. روش DAT در بسیاری از کشورها به کار رفته و روش مفید برای تشخیص لیشمانیوز احشایی گزارش شده است (18). محدودیت های موجود این روش در میدان عملیات، شامل آسیب دیدن آنتی ژن های محلول، نبود زنجیره سرد و نبود استاندارد در قرائت تست است. هم چنین مانند همه روش های مبتنی بر آنتی بادی، روش DAT ممکن است برای مدت طولانی پس از بهبودی کامل بیماری مثبت نشان دهد (19). در روش ELISA با وجود داشتن حساسیت بالا، ویژگی آن وابسته به آنتی ژن به کار رفته است. حساسیت آن 100-80 درصد گزارش شده ولی دارای واکنش متقاطع با توبرکلوزیس و توکسوپلاسموزیس می باشد (16,17,21). با توجه به محدودیت های اشاره شده، در مناطق اندمیک به روشی ساده، سریع با دقت بالا و بدون نیاز به مهارت بالا برای انجام آن نیاز است. تشخیص آنتی ژن نسبت به تشخیص آنتی بادی دارای ویژگی بالاتری است (13). در روش KAtex که به تشخیص آنتی ژن می پردازد در مواقعی که سیستم ایمنی بدن ضعیف است و آنتی بادی بر علیه بیماری تولید نمی شود مانند بیماری ایدز نیز کاربرد دارد (22,23).

در مطالعه ی حاضر از تعداد 385 نمونه ی ادرار آزمایش شده، 38 مورد مثبت شدند. 23 مورد مرد و 15 مورد زن که نسبت 2 به 1 است. این یافته با یافته های دیگر محققین همخوانی دارد (24). در این مطالعه 3/8 درصد گروه 2 سال آزمون مثبت بود. در اغلب موارد کالا آزار گزارش شده افراد آلوده در گروه 2- 1 سال نسبت به گروه زیر یک سال بالاتر بود (24). روستای آتیکندی دارای بیشترین موارد مثبت است. این افراد عشایری بودند که اغلب آن ها سگ داشتند و این ممکن است دلیل امر باشد (25,26). شدت انگل ها ممکن است با میزان آنتی ژن موجود در ادرار رابطه داشته باشد. تعداد موارد سه مثبت در گروه سنی 3-1 سال بالاتر از گروه های سنی دیگر بود و این قابل پیش بینی بود، زیرا درصد عفونت در این گروه نسبت به گروه های دیگر بالاتر بود. این امر توسط ادریسیان و همکارانش در سال 1996 تأیید شده بود (24). واکنش متقاطع در روش های سرولوژی توکسوپلاسموز و توبرکلوزیس بالا است ولی در KAtex هیچ گونه واکنش متقاطعی با بیماری بروسلوز، توبرکلوزیس و توکسوپلاسموزیس دیده نشده است (16,27). برای بررسی واکنش متقاطع، 14 نمونه از بیمارانی که مبتلا به توکسوپلاسموزیس، توبرکلوزیس و بروسلوزیس بودند با KAtex مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج نشان داد که هیچ گونه واکنش متقاطعی وجود ندارد.

به منظور ارزیابی حساسیت و ویژگی روش KAtex، آزمون روی 18مورد مثبت تأیید شده ی لیشمانیوز احشایی انجام شد. حساسیت 77/77 درصد، ویژگی 985/34، ارزش اخباری مثبت 93/33 درصد و ارزش اخباری منفی 93/33 درصد را نشان داد. این نتایج با تحقیق Sarkari و همکارانش در 2002 هم خوانی دارد. آن ها با انجام KAtex روی نمونه های ادرار حساسیت 100-94 درصد و ویژگی 100 درصد را گزارش دادند (28). Attar و همکارانش در سال 2001 در سودان نشان دادند که روش کاتکس در 15 بیمار تأیید شده با روش مسقیم مثبت بود (حساسیت 100 درصد) و در 41 مورد از 45 مورد اسمیر منفی مغز استخوان منفی بود (ویژگی 82/2 درصد) (29). در این مطالعه از 57 فرد سالم، 10 مورد با روش کاتکس مثبت شدند. پس از 15 روز تیتر آنتی بادی در 2 نفر که کاتکس آن ها مثبت بود با روش DAT بالاتر از 1/3200 تشخیص داده شدند و در 8 مورد باقی مانده آزمایش DAT منفی بود. این یافته ها نشان داد که کاتکس می تواند موارد پنهان بیماری را تشخیص دهد و از این نظر می تواند مکملی برای روش DAT باشد. سؤال مهم در روش کاتکس تبدیل موارد مثبت به موارد منفی است. مطالعات اولیه نشان داده است که روش کاتکس در هفته ی 12 پس از عفونت منفی می شود (29). در مطالعه ی مشابه که در مناطق اندمیک استان اردبیل انجام شده حساسیت

www.SID.ir

Archive of SID

و ویژگی تست در تشخیص لیشمانیازیس احشایی مدیترانه ای در مرحله ی حاد بیماری به ترتیب 82/7 درصد و 98/9 درصد بود که با نتایج مطالعه ی حاضر همخوانی دارد (30).

در این مطالعه با پیگیری موارد درمان شده بیماران تأیید شده ی لیشمانیوز احشایی برای 3-1 ماه نشان داده شد که نتایج مثبت به منفی تبدیل شدند. این امر مربوط به کاهش سطح آنتی ژن در نمونه های ادرار پس از 12 هفته می باشد. در مطالعه ی حاضر نمونه ی ادرار 14 نفر بیمار که با روش کاتکس مثبت تشخیص داده شده بودند دیده شد که در هفته ی 3 موارد سه مثبت از 7 به 3 و موارد دو مثبت از 4 به 3 مورد کاهش یافت. در این مطالعه مشاهده شد که روش کاتکس بالاترین هم خوانی را با روش ELIS AIgM دارد و این می تواند به علت افزایش IgM در موارد حاد بیماری و کاهش سریع آن می باشد. در این مطالعه مشخص شد که موارد مثبت در بیمارانی که اخیراً مبتلا شده اند نسبت به بقیه بیشتر بود.

بیماران درمان شده که باDAT مثبت بود با روش کاتکس منفی نشان داده اند.

نتیجه گیری

کاتکس روشی ساده، اقتصادی و قابل اعتماد می باشد. این روش دارای دو مزیت برجسته است. برای انجام آن به دستگاه های پیشرفته نیاز نیست و دوم این که انجام آن ساده بوده و نیاز به مهارت خاص نداشته و تکنسین های آزمایشگاه ها با این روش آشنایی کامل دارند.

تشکر و قدردانی

از مسؤولین محترم دانشگاه که طرح تحقیقاتی (به شماره ی 42/161) را از نظر مالی و اجرایی پشتیبانی نمودند و هم چنین از پرسنل محترم و زحمتکش مراکز بهداشتی درمانی مناطق کلیبر و اهر که در انجام این تحقیق نهایت همکاری را داشتند، تشکر و قدردانی می نماییم.

References:

1- Davies CR, Mazloumi Gavgani AS. Age acquired immunity and the risk of visceral leishmaniasis: a prospective study in Iran. Parasitology 1999; 119(3): 247-257.

2- Saki J, Meamar AR, Oormazdi H, Akhlaghi L, Maraghi S, Mohebali M, et al. Mini-Exon genotyping of leishmania species in Khouzestan province, southwest of Iran. Iranian J Parasitol 2010; 5(1): 25-34.

3- Reid MA. Kala-azar in south persia. Trans R Soc Trop Med Hyg 1952; 46(2): 555-557.

4- Mohebali M, Hajaran H, Hamzavi Y, Mobedi I, Arshi Sh, Zarei Z, et al. Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniosisin. Vet Parasitol 2005; 129(3-4): 243-51.

5- Mohebali M, Edrissian Gh H, Nadim A, Hajjaran H, Akhoundi B, Hooshmand B, et al. Application of Direct agglutination test (DAT) for the diagnosis and seroepidemiological studies of visceralleishmaniasis in Iran. Iranian J Parasitol 2006; 1(1): 15-25.

6- Edrissian GH, Hafizi A, Afshar A, Soleiman-Zadeh G, Movahed-Danesh AM, et al. An endemic focus of visceral leishmaniasis in Meshkin-Shahr, east of Azerbaijan province, north-west part of Iran and IFA serological survey of disease in the area. Bull Soc Pathol Exot 1988; 81(2): 238-48.

7- Gangneux JP, Menotti J, Lorenzo F, Sarfati C, Blanche H, Bui H, et al. Prospective value of PCR amplification and sequencing for diagnosis and typing of old world leishmania infections in area of nonendemicity. J Clin Microbiol 2003; 41(4): 1419–1422.

8- Carvalho SF, Lemos EM, Corey R, Dietze R. Performance of recombinant K39 antigen in the diagnosis of Brazilian visceral leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg 2003; 68(3): 321–324.

9- Iqbal J, Hira PR, Saroj G, Philip R, Al-Ali F, Madda PJ, et al. Imported visceral leishmaniasis: diagnostic dilemmas andcomparative analysis of three assays. J Clin Microbiol 2002; 40(2): 475–479.

10- Mary C, Faraut F, Lascombe L, Dumon H. Quantification of Leishmania infantum DNA by real-time PCR assay with highsensitivity. J Clin Microbiol 2004; 42(11): 5249–5255.

11- Piarroux R, Gamberelli H, Dumon M, Fontes S, Dunan C, Mary B. Comparison of PCR with direct examination of bone marrow aspiration, myeloculture, and serology for diagnosis of visceral leishmaniasis in immune compromised patients. J Clin Microbiol 1994; 32(3): 746–749.

www.SID.ir

Archive of SID

12- Fissore C, Delaunay P, Ferrua B. Convenience of serum for visceral leishmaniasis diagnosis by PCR. J Clin Microbiol 2004; 42(11): 5332-5333.

13- De Colmenares M, Portus M, Riera C, Gallego M, Aisa MJ, Torras S. Detection of 72–75 kD and 123 kD fractions of leishmania antigen in urine of patients with visceral leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg 1995; 52(5): 427-428.

14- Handemir E, Oncel T, kamburgil K. Seroprevalence of visceral leishmaniasis in stray dogs in Istanbul. T P D 2004; 28(3): 123-125.

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

16- Aikat BK, Sehgal S, Mahajan RC, Pathania AG, Bhattacharya PK, Sahaya S, et al. Pasricha N: The role of counter immunoelectrophoresis as a diagnostic tool for kala-azar. Indian J Med Res1979; 70(3): 592–597.

17- Zijlstra EE, Nur Y, Desjeux P, Khalil EA, El-Hassan AM. Diagnosing visceral leishmaniasis with the recombinant K39 strip test: experience from the Sudan. Trop Med Intl Health 2001; 6(2): 108–113 .

18- Gani Z H, Hassan M K, Jassim AM H. Sero-epidemiological study of visceral leishmaniasis in Basrah, Southern of Iraq. J Pak Med Assoc 2010; 60(6): 464-469.

19- Boelaert M, Lynen L, Desjeux P. Cost-effectiveness of competing diagnostic-therapeutic strategies for visceral leishmaniasis. Bull WHO 1999; 77(8): 667–674.

20- Smrkovski L L, Larson C L. Antigen cross reactivity between Mycobacterium bovis (BCG) and Leishmania donovani. Infect Immunol 1977; 18(2): 561–562.

21- Sundar S, Reed SG, Singh VP, Kumar PC. Rapid accurate field diagnosis of visceral leishmaniasis. Lancet 1998; 351(9102): 563–565.

22- Riera C, Fisa R, Lopez P, Ribera E, Carrio J, Falco V, et al. Evaluation of a latex agglutination test (Katex) for detection of leishmania antigen in urine of patients with HIV-leishmania co infection: value in diagnosis and post-treatment follow-up. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004; 23(12): 899-904.

23- Salotra P, Sreenivas G, Ramesh V, Sundar S. A simple and sensitive test for field diagnosis of post kala-azar dermal leishmaniasis. Br J Dermatol 2001; 145(4): 630–632.

24- Edrissian GH. Visceral leishmaniasis in Iran and the role of serological tests in diagnosis and epidemiological studies. In Ali Ozcel M, Ziyal Alkass M, (eds). Parasitology for the twenty first century. CAB International, Wallingford; 1996: 63–78.

25- Gallego M, Pratlong F, Fisa R, Riera C, Rioux JA, Dedet JP, et al. The life-cycle of leishmania infantum MON-77 in the Priorat (Catalonia, Spain) involves humans, dogs and sandflies; also literature review of distribution and hosts of L. infantum zymodemes in the old world. Trans R Soc Trop Med Hyg 2001; 95(3): 269-71.

26- Cruz I, Canavate C, Rubio JM, Morales MA, Chicharro C, Laguna F, et al. A nested polymerase chain reaction (Ln-PCR) for diagnosing and monitoring leishmania infantum infection in patients co-infected with human immunodeficiency virus. Trans R Soc Trop Med Hyg 2002; 96(1): S185–S189.

27- Tahernia AC, Jalayer T. Visceral leishmaniasis in children in southern Iran. Ann Trop Med Parasitol 1968; 62(2): 171-173. [In Persian]

28- Sarkari B, Chance M, Hommel M. Antigenuria in visceral leishmaniasis: detection and partial characterization of a carbohydrate antigen. Acta Trop 2002; 82(3): 339-48.

29- Attar ZJ, Chance ML, El-Safi S, Carney J, Azazy A, El-Hadi M, et al. Latex agglutination test for the detection of urinary antigens in visceral leishmaniasis. Acta Trop 2001; 78(1): 11-16.

30- Malaei S, Mohebali M, Akhoundi B, Zarei Z. Evaluation of latex agglutination test (Katex) for the detection of urinary antigens in human visceral leishmaniasis. Journal of Tehran University of Medical Sciences 2006; 4(1): 101–108. [In Persian]

www.SID.ir

Archive of SID

Detection of Leishmania Infantun Antigens in Urinary Samples by KAtex and Its Comparison with Serological Methods

Shahram Khademvatan [1], Abdolsamad Mazloumi[2], Esmaeil Fallah[2] and Jasem Saki [3]

Abstract

Background and Aim: Visceral leishmaniasis is endemic at least in three provinces of our country, Iran, including Ardabil, Fars and East Azarbayejan. The disease is of Mediterranean type in Iran and affects mainly children. Therefore, the early diagnosis and treatment of this disease can prevent its high mortality (95%). Because of the invasion of bone marrow aspiration or biopsy and limitations in the others methods, several studies have been done to use simple tests for the diagnosis of Leishmania infantum in children that KAtex test to detect the urinary antigens is one of them. The aim of this study was to evaluate the efficiency of KAtex test in the diagnosis of visceral leishmaniasis and possible replacement with serological methods (IFA, DAT, Elisa IgG & IgM) in endemic areas.

Materials and Methods: This was a cross-sectional, descriptive and epidemiologic study which was conducted in Ahar and Kalybar villages of East Azarbayejan as endemic areas. KAtex kit was used for diagnosis in 72 confirmed and historic Kala-azar patients and for case finding among 313 children in the endemic area of Kalibar & Ahar, East Azerbaijan province, the northwest of Iran. The results were also compared with serologic tests (DAT, IFA, and Elisa- IgG & IgM) to determine any possible agreement and validity & reliability indexes. Kappa and McNemar were used for data analysis.

Results: From 385 of urinary samples, 38 (9.8%) were positive by KAtex test. The rapid KAtex test had sensitivity of 77.7% and quite specificity (98.2%) in the diagnosis of human visceral leishmaniasis. Highest and lowest agreements of KAtex test were with Elisa- IgM (kappa = 0.834, P= 0.549) and DAT (kappa=0.400, P< 0.001), respectively. Also, this test did not have any cross reaction with tuberculosis, toxoplasmosis and brucellosis patients' urine samples.

Conclusion: The KAtex test is rapid, non-invasive and simple. It does not require much expertise or elaborate equipment; and it can be used for the diagnosis of visceral leishmaniasis in remote endemic areas. Also, because KAtex discriminates between active diseases, sub-clinical and past infection, its results can complete DAT for the diagnosis of unconfirmed visceral leishmaniasis cases.

Keywords: Diagnosis, Iran, Urine, Visceral leishmaniasis

Ofogh-e-Danesh. GMUHS Journal. 2011; Vol. 17, No. 2

1- PhD, Assistant Professor, Department of Parasitology, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
2- PhD, Associate Professor, Department of Parasitology, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
3- **Corresponding Author:** PhD, Assistant Professor, Department of Parasitology, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran. **Tel:** +98 611 3367543-50 **Fax:** +98 611 3367543-50 **E-mail:** jasem.saki@gmail.com

www.SID.ir