Archive of SID

بررسی اپیدمیولوژی مولکولی لیشمانیوز پوستی در بیماران مراجعه کننده به گروه انگل شناسی دانشکده پزشکی شیراز و اهمیت کاربرد روش PCR در تشخیص بیماری

نویسندگان:

مهدی فخار*[1] ، فتانه میکائیلی[2] ، غلامرضا حاتم[3] ، پروانه حبیبی[3] ، مهدی کرمیان[3] ، محمدحسین معتضدیان[3] ، الهام بنی مصطفوی[4]

۱- مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، بخش انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲- بخش انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- بخش انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

٤- بخش رادیولوژی، دانشکده پزشکی ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی جهرم، دوره هشتم، شماره یک ، بهار ۸۹

چکیده:

مقدمه: استان فارس یکی از کانون های آندمیک لیشمانیوز پوستی محسوب می شود. هدف از مطالعه حاضر بررسی وضعیت اپیدمیولوژی مولکولی و ارزیابی روش مولکولی واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) بر روی اسلایدها برای تشخیص بیماری در بیماران مراجعه کننده به گروه انگل شناسی دانشکده پزشکی شیراز بود.

روش کار:

این مطالعه مقطعی در یک دوره زمانی ۵ ساله (۸۴-۸۰) روی بیماران مراجعه کننده به گروه انگل شناسی دانشکده پزشکی انجام شد. تشخیص بیماری با تهیه اسمیر مستقیم از ضایعات و رنگ آمیزی گیمسا بود. در موارد ضروری در صورت منفی شدن نتیجه آزمایش با روش مستقیم، از روش واکنش زنجیره ای پلیمراز بر روی اسمیر مستقیم جهت تعیین جنس لیشمانیا و گونه انگل استفاده شد. داده های بدست آمده ثبت شدند و توسط نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند .

یافته ها:

در این مطالعه تعداد ۱۸۶ بیمار مشکوک به لیشمانیوز پوستی مورد مطالعه قرار گرفتند که نتیجه آزمایش مستقیم ۱۰۴ نفر(۵۶ درصد) مثبت شد. همچنین با استفاده از روش واکنش زنجیره ای پلیمراز، روی تعداد ۶۲ گسترش مستقیم که جسم لیشمن در آن ها مشاهده نشده بود، در ۳۵ مورد (۵۶/۴ درصد) از آن ها دی ان ای (DNA) انگل لیشمانیا شناسایی شد. همچنین با استفاده از پرایمرهای اختصاصی گونه، گونه انگل لیشمانیا در بیماران ساکن نقاط مرکزی شهر، گونه ی لیشمانیا تروپیکا (نوع شهری) و در بیماران ساکن روستاهای حومه، گونه ی لیشمانیا ماژور (نوع روستایی) بود.

بحث و نتیجه گیری:

از آن جایی که در بعضی از موارد گزارش اسمیر مستقیم بیماران منفی است، لذا پیشنهاد می شود در مناطق آندمیک در صورت مشکوک بودن به بیماری از روش واکنش زنجیره ای پلیمراز بر روی نمونه ها استفاده شود.

واژگان کلیدی:

لیشمانیوز پوستی، اپیدمیولوژی مولکولی، لیشمانیا ماژور، لیشمانیا تروپیکا

مقدمه:

لیشمانیوز (Leishmaniasis) از بیماری های مشترک بین انسان و حیوان است که توسط گونه های مختلف تک یاخته ای از جنس *لیشمانیا* ایجاد می شود و تظاهرات بالینی مختلفی از نوع جلدی، جلدی منتشره، و احشائی در انسان و برخی حیوانات ایجاد می کند. ناقل آن، پشه های خاکی ماده از جنس فلبوتوموس (Phlebotomous) است [۱]. لیشمانیوز در حدود ۸۲ کشور جهان (۲۱ کشور از دنیای جدید و۶۱

* نویسنده مسئول: آدرس، ساری – کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد – مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم (ص)، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی.

صندوق پستی : ۱۶۶۵-۴۸۱۷۵ پست الکترونیک: mahdif53@yahoo.com

تاریخ دریافت : ۱۳۸۸/۱۰/۱۵ تاریخ اصلاح : ۱۳۸۸ /۱۱/۲۹ تاریخ پذیرش : ۱۳۸۸/۱۲/۱۷

www.SID.ir

Archive of SID

کشور از دنیای قدیم) دیده می شود.۴۰۰-۳۵۰ میلیون نفر در معرض خطر ابتلا به آن قرار دارند و حدود ۱۲ میلیون نفر به آن مبتلا می باشند [۲]. لیشمانیوز جلدی روستائی در نه استان کشور ما وجود دارد و موارد پراکنده آن در سایر استان های کشور نیز دیده می شود. دو فرم شایع این بیماری در ایران عبارتند از نوع شهری و نوع روستائی که هر کدام از این دو نوع دارای کانون های متعددی در کشور می باشند [۳]. میزان بروز بیماری از سال ۱۳۶۲ تا سال ۱۳۷۷ همواره در محدوده ی بین ۲۰ تا ۴۰ مورد در هر صد هزار نفر جمعیت نوسان داشته است. در سال ۱۳۷۷ استان یزد با بروز ۱۶۹ مورد در صد هزار نفر در رده اول و استان های نظیر اصفهان، ایلام، فارس با بروز بین ۸۴ تا ۱۲۷ مورد در صد هزار نفر در رده دوم آلودگی قرا ر داشتند. استان های اصفهان و فارس از کانون های قدیمی می باشند و استان ایلام به دلیل ایجاد شرایط انتقال در طول سال های جنگ تحمیلی، بعد از اتمام جنگ به کانون بیماری تبدیل شده است. استان خراسان و خوزستان در رده سوم با میزان بروز بین ۴۲ تا ۸۴ مورد در صد هزار نفر و بقیه استان ها بین ۱ تا ۴۲ مورد در صد هزار نفر بوده اند. استان های زنجان و گیلان بدون گزارش موارد مثبت، از مناطق پاک کشور محسوب می شوند. استان فارس یکی از کانون های آلودگی لیشمانیوز جلدی می باشد و شهر شیراز چهارمین کانون لیشمانیوز پوستی شهری است. در سال های ۱۳۵۱ و ۱۳۵۲ مطالعاتی در شیراز انجام گرفت که از تعداد ۲۵۲۸ نفر ۱۶/۱ درصد جای زخم و ۰/۱۹ درصد زخم جدید داشتند. از سال ۱۳۶۸ موارد بیماری در مناطقی از روستاهای اطراف دریاچه بختگان مشاهده شد به طوری که شهرستان های لارستان، نی ریز و استهبان از کانون های آلودگی بودند. نتایج مطالعه ی سال ۱۳۷۳ در شهرستان های استهبان و نی ریز در این مورد نشان داد که ۳۴/۲ درصد افراد دارای جوشگاه سالک بودند و نتیجه آزمایش لیشمن ۱۷ درصد از این افراد مثبت شد. به علاوه، نتیجه آزمایش لیشمن ۳۳ درصد افراد بدون جوشگاه سالک، مثبت بود [۴]. روش های تشخیص عمدتا" مبتنی بر روش های انگل شناسی و مشاهده مستقیم انگل می باشد. در مورد سالک نوع شهری و روستائی، روش های سرولوژی کارایی چندانی ندارند. با این حال می توان از بعضی روشها مانند روش آنتی بادی تک دودمانی بهره برد. همچنین از روش های مولکولی مانند هیبریداسیون دی ان ای (DNA probe) و واکنش زنجیره ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction - PCR) و روش های بیوشیمیایی مانند مقایسه ایزوآنزیم های انگل با سویه های مرجع نیز می توان استفاده کرد [۵ و ۶]. شکل های بالینی لیشمانیوز پوستی در مناطق مختلف متفاوت است که منعکس کننده تفاوت ها در گونه های انگلی است. یک شکل معمول شروع زخم با ایجاد اولیه یک ندول در محل نیش پشه است که در نهایت به تشکیل زخم منتهی می شود [۷]. به طور کلی درمان موثر بستگی به شناخت سوش لیشمانیای عامل بیماری دارد. لیشمانیوز دنیای جدید عمدتاً به درمان طولانی تر و قوی تری احتیاج دارد و داروی انتخابی آن آنتی مونیال (Antimonial) به فرم تزریقی است [۸]. با توجه به تابلو بالینی بسیار گسترده و پیچیده ضایعات پوستی ناشی از بیماری و موارد تشخیص افتراقی متعدد آن از یک سو و حساسیت کم روش مستقیم تشخیص بیماری از سوی دیگر، بررسی وضعیت دموگرافیک بیماری مذکور و ارزیابی روش مولکولی PCR (واکنش زنجیره ای پلیمراز) بر روی اسلایدها جهت تشخیص بیماری و مشخص نمودن پراکندگی نسبی گونه های مختلف انگل در بیماران مراجعه کننده به گروه انگل شناسی دانشکده پزشکی شیراز در قالب یک طرح مطالعاتی اجرا شد.

روش کار:

این مطالعه توصیفی مقطعی، در یک دوره زمانی ۵ ساله (۸۴-۸۰) بر روی بیماران مراجعه کننده به گروه انگل شناسی دانشکده پزشکی شیراز که توسط پزشکان متخصص پوست بیمارستان شهید فقیهی شیراز معاینه شده بودند، انجام شد. بیماران با تشخیص لیشمانیوز پوستی، ابتدا از نظر اپیدمیولوژی (توزیع سنی، جنسی، زمانی و مکانی، محل زخم و تعداد زخم) بررسی شدند. تشخیص بیماری با تهیه اسمیر مستقیم از ضایعات و رنگ آمیزی به روش گیمسا بود. در این روش با ایجاد برش کوچکی در اطراف زخم از سروزیته ناحیه زخم گسترش نازکی روی لام میکروسکوپی تهیه می شود. سپس لام های تهیه شده به روش گیمسا رنگ آمیزی شده و با کمک میکروسکوپ، جسم لیشمن (آماستیگوت) داخل و خارج سلول های بیگانه خوار جستجو می شود [۹]. در موارد نیاز، در صورت منفی شدن نتیجه ی آزمایش روش مستقیم، از روش واکنش زنجیره ای پلیمراز با استفاده از پرایمرهای عمومی RV1 و RV2 جهت تشخیص جنس لیشمانیا و پرایمرهای اختصاصی LIN17 و LINR4 جهت تعیین گونه انگل استفاده شد [۱۰ و ۱۱]. داده ها به وسیله پرسشنامه جمع آوری و با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون کای دو تحلیل شدند.

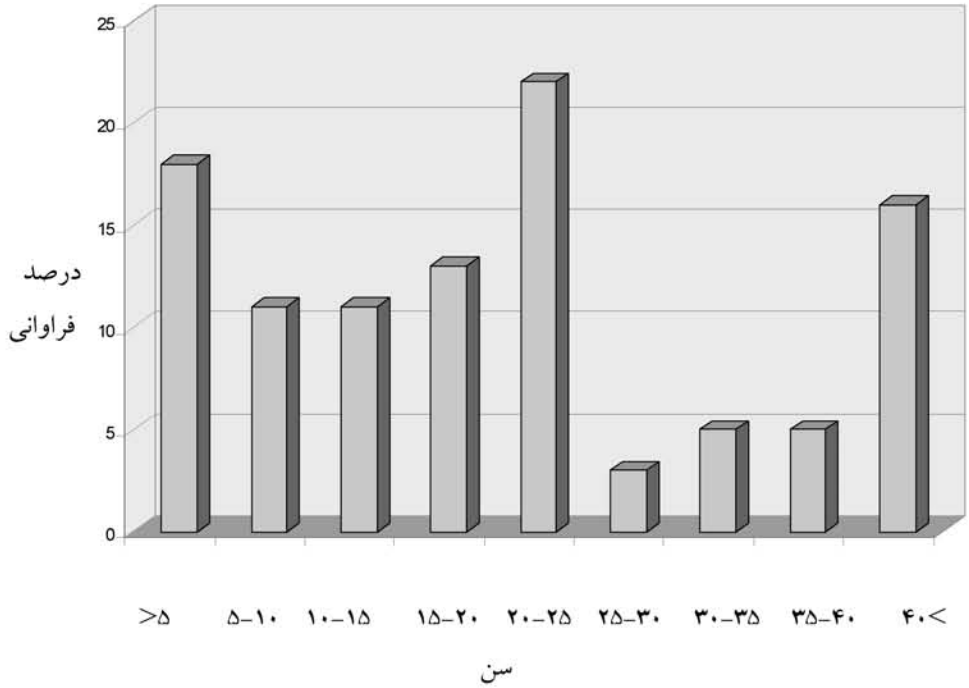
یافته ها:

بررسی اپیدمیولوژی لیشمانیوز پوستی در بیماران مراجعه کننده به گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده پزشکی شیراز طی سال های ۸۴-۸۰ نشان داد که از تعداد ۱۸۶ بیمار مشکوک به این بیماری، گسترش مستقیم ۱۰۴ نفر (۵۶ درصد) از نظر وجود جسم لیشمن در زخم، مثبت بودند که از این تعداد، ۵۹ نفر (۵۶/۷ درصد) جنس مونث و ۴۵ نفر (۴۳/۳ درصد) جنس مذکر بودند. از نظر آماری اختلاف معنی داری بین جنس مونث و مذکر مشاهده نشد. در گسترش مستقیم ۸۲ نفر(۴۴/۱ درصد) جسم لیشمن مشاهده نشد. از نظر تعداد ضایعه نیز، ۶۰/۵ درصد موارد تنها دارای یک ضایعه، ۱۵/۴ درصد دارای دو ضایعه و ۲۴/۱ درصد بیش از یک ضایعه داشتند. عضو با بیش ترین میزان ابتلا در این بیماران، در رتبه ی نخست، دست با ۳۲/۵ درصد و بعد از آن به ترتیب اعضای صورت (۲۳/۶ درصد)، پا (۱۴/۶ درصد) بود. در ۲۹/۳ درصد موارد هم، زخم بر روی سایر نقاط بدن مشاهده شد. بیماری مذکور در گروه سنی ۲۵-۲۰ سال شایع تر بوده (نمودار ۱) و بررسی روند زمانی بیماری بر حسب ماه در استان فارس نشان می دهد که موارد بیماری در فصل پائیز به طور معنی داری افزایش یافته و بیشترین مورد بیماری مربوط به ماه آبان با ۱۹/۲ درصد می باشد $P<0/05$ (نمودار ۲. از نظر محل سکونت نیز ۷۹/۸ درصد بیماران ساکن شهر شیراز و ۲۰/۲ درصد در شهرستان های تابعه استان ساکن

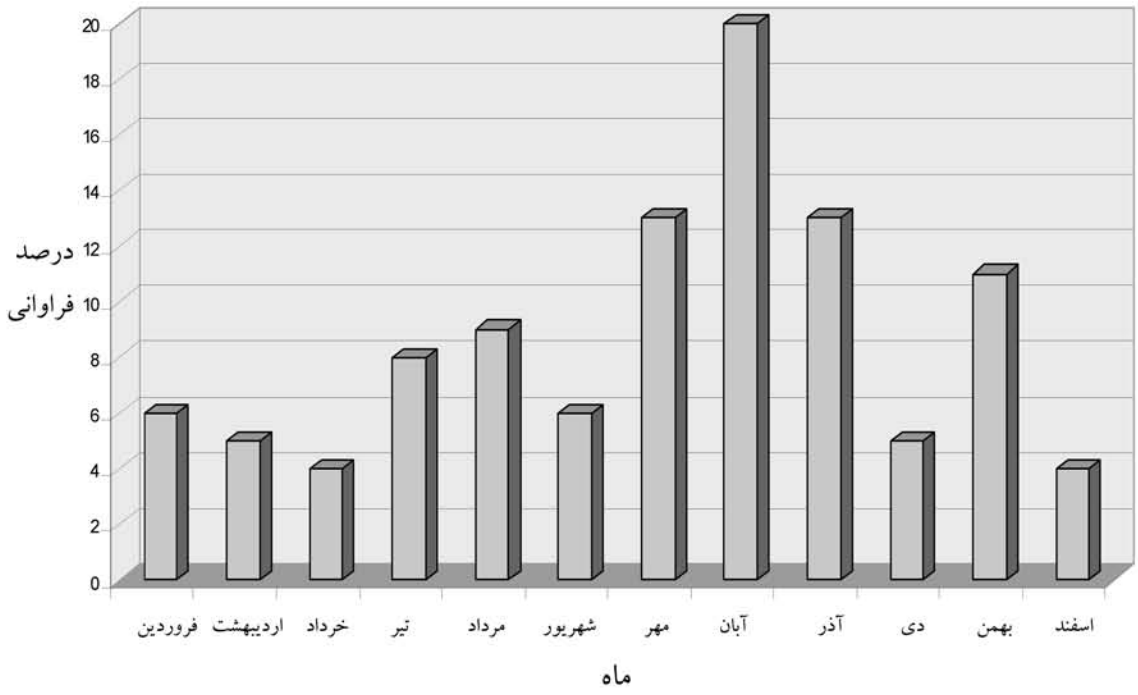
www.SID.ir

Archive of SID

بودند. همچنین در این مطالعه، بر روی ۶۲ نفر از بیماران که نتیجه آزمایش آن ها با استفاده از روش مستقیم منفی بود، آزمایش به روش مولکولی PCR با استفاده از پرایمرهای عمومی و اختصاصی به ترتیب جهت شناسایی جنس انگل لیشمانیا و گونه انگل انجام گرفته که تعداد ۳۵ مورد از آن ها (۵۶/۴ درصد) DNA انگل لیشمانیا شناسایی شد.همچنین گونه انگل در بیماران ساکن نقاط مرکزی شهر لیشمانیا تروپیکا (نوع شهری) (تعداد ۸ مورد) و در بیماران ساکن حاشیه شهر و روستاهای حومه لیشمانیا ماژور (نوع روستایی) (تعداد ۲۷ مورد) بود.



نمودار ۱ : فراوانی لیشمانیوز پوستی بر حسب سن در استان فارس، ۸۴-۱۳۸۰



نمودار ۲: فراوانی لیشمانیوز پوستی بر حسب ماه در استان فارس، ۸۴-۱۳۸۰

www.SID.ir

Archive of SID

بحث و نتیجه گیری:

در مطالعه حاضر، اختلاف معنی داری بین میزان ابتلا جنس مذکر و مونث دیده نشد. اگر چه در بعضی از سال ها اختلاف هایی دیده شد، اما این اختلاف ها معنی دار نبودند. این نتیجه با سایر مطالعات انجام گرفته در استان مطابقت دارد [۱۱ و ۱۲ و ۱۳ و ۱۴]. روانبد شیرازی در سال ۱۳۸۰ با بررسی آمار بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی مراجعه کننده به درمانگاه پوست بیمارستان شهید فقیهی شیراز دریافت که بیش ترین تعداد بیماران سالک مربوط به شهرستان شیراز بوده است. همچنین کم ترین درصد بیماران، مراجعه کنندگانی بودند که از خارج از استان فارس به درمانگاه مذکور مراجعه کرده بودند. به دلیل محدود بودن بیماران مبتلا به سالک او نتوانست ارتباط منطقی و معنی داری بین بیماران و محل سکونت آنها پیدا کند. در مطالعه ی روانبد شیرازی بین سن و جنس بیماران نیز ارتباط معنی داری پیدا نشد، اما بین فصل مراجعه و تعداد موارد بیماری ارتباط معنی داری مشاهده شد.

بر اساس نتایج بدست آمده از مطالعه ی مذکور، فصل زمستان بیش ترین تعداد بیماران مراجعه کننده و فصل بهار کم ترین تعداد را به خود اختصاص داده بود. همچنین در محدوده ی سنی بین ۱۰ تا ۳۰ سال بیش ترین میزان درگیری و در محدوده ی سنی بالاتر از ۵۰ سال کم ترین شیوع مشاهده شده است [۱۴]. رحمانی در سال ۱۳۷۸ با بررسی بالینی- آسیب شناسی لیشمانیوز پوستی در بیمارستان های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شیراز به این نتیجه رسیدکه بیماری در دهه های پایین زندگی به خصوص در دهه های دوم و سوم بیش تر دیده می شود و از نظر درگیری بین دو جنس تفاوت آماری وجود ندارد. عضو صورت، عضوی با بیش ترین ضایعه می باشد و به دنبال آن اندام فوقانی و اندام تحتانی قرار دارند. کم ترین موارد درگیری در تنه و گردن می باشد و این حالت در هر دو جنس یکسان است. البته در نواحی مختلف اندام فوقانی و تحتانی از نظر آماری اختلاف مشاهده می شود، به گونه ای که بیش ترین محل های ضایعه نواحی انتهائی اندام ها یعنی نواحی باز است [۱۳]. شواهد اپیدمیولوژیک و مولکولی در استان فارس نشان می دهد که گونه لیشمانیا ماژور در این استان گونه غالب می باشد [۱۰ و ۱۵ و ۱۶ و ۱۸]، اما نباید کانون های نوع شهری بیماری را فراموش نمود و اقدامات لازم جهت کنترل آن را انجام داد. با توجه به این که این نوع بیماری تنها از انسان به انسان منتقل می شود کنترل آن به سهولت امکان پذیر می باشد. در مورد کارآیی روش PCR در مطالعه حاضر مشاهده شد در بیش از نیمی (۵۶/۴ درصد) از مواردی که نتیجه ی آزمایش با روش مستقیم منفی بوده است، با روش مولکولی نتیجه مثبت شده است. لذا به منظور تشخیص دقیق تر بیماری و جلوگیری از تشخیص اشتباهی(منفی کاذب) مناسب تر است از روش PCR ستفاده نمود. نتایج این مطالعه با سایر مطالعات انجام شده توسط سایر محققین و همچنین مولفین مقاله هم خوانی دارد [۱۶ و ۱۸ و ۱۹ و ۲۰ و ۱۰]. معتضدیان در سال ۱۳۸۳ با انجام روش اختصاصی Nested-PCR بر روی ۴۹ اسلاید رنگ آمیزی شده مربوط به بیماران مبتلا به سالک، تعداد ۲۰ نمونه را لیشمانیا تروپیکا و ۲۷ نمونه را لیشمانیا ماژور تشخیص داده است [۱۰]. حاتم در سال ۲۰۰۵ با تعیین هویت انگل های لیشمانیا جدا شده از بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی در نقاط مختلف ایران با روش ایزوآنزیم، ۵ ایزوله لیشمانیا ماژور و ۲ ایزوله لیشمانیا تروپیکا از استان فارس، ۴ ایزوله لیشمانیا ماژور و ۷ ایزوله لیشمانیا تروپیکا از استان اصفهان و ۲ ایزوله لیشمانیا ماژور و ۱۸ ایزوله لیشمانیا تروپیکا از استان کرمان گزارش کرده است [۱۱]. رضانژاد در سال ۱۳۸۴ تعدادی از بیماران مبتلا به سالک ساکن در شهرستان های استان فارس را با روش های ایزوآنزیم و PCR مورد بررسی قرار داده که کلیه نمونه های مورد مطالعه لیشمانیا ماژور تشخیص داده شدند و این موضوع را نشانه ای از افزایش گسترش این گونه لیشمانیا در ایجاد لیشمانیوز پوستی در استان فارس می داند [۱۶]. بنی مصطفوی در سال ۱۳۸۵ با بررسی دموگرافیک لیشمانیوز پوستی در طی ده سال (۸۳-۷۳) و استفاده از سیستم های اطلاعات جغرافیایی (Geographical Information System - GIS) در اپیدمیولوژی بیماری سالک در استان فارس نشان داد که بیشترین میزان شیوع این بیماری در شرق استان فارس و مربوط به شهرستان نی ریز می باشد [۱۷].

در خصوص نحوه تشخیص بیماران به صورت بالینی و آزمایشگاهی نتایج حاکی از آن است که در استان فارس ۵۶ درصد موارد به صورت آزمایشگاهی و ۴۴ درصد موارد به صورت بالینی تشخیص داده شده و سپس مورد درمان قرار گرفته اند [۴]، لذا توصیه می شود با توجه به تابلو بالینی بسیار گسترده و پیچیده ضایعات پوستی و موارد تشخیص افتراقی متعدد، تشخیص مبتلایان در کانون های بومی به صورت آزمایشگاهی انجام گیرد. از طرف دیگر چون روش مستقیم تشخیص بیماری به علت عدم امکان تهیه ی مناسب نمونه از حساسیت کافی برخوردار نیست، در مواردی که تعداد آماستیگوت های انگل در اسلاید بسیار کم بوده و امکان تشخیص به حداقل می رسد [۱۰]، روش مولکولی PCR بر روی اسلایدها جهت تشخیص بیماری و تعیین گونه انگل استفاده شود.

نتیجه گیری: نتایج بدست آمده نشان می دهد که همه گیری بیماری لیشمانیوز پوستی بیشتر در زنان ساکن شیراز و با داشتن یک ضایعه بر روی دست می باشد. از آن جایی که در بعضی از موارد نتیجه ی آزمایش اسمیر مستقیم بیماران، منفی گزارش می شود، لذا پیشنهاد می شود در مناطق آندمیک در صورت مشکوک بودن به بیماری حتما" کشت و یا PCR بر روی نمونه انجام شود .

www.SID.ir

Archive of SID

References

منابع:

1. Anon.Tropical Disease Research Progress 1975–1994Highlights1993–1994.Twelfth programme report of the UNDP/World Bank /WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR). Geneva: World Health Organization, 1995: 125–34.
2. Grimaldi G JR, Tesh RB, MCMahon-pratt D. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the New World. Am J Trop Med Hyg 1989: 41(6): 687-725.
3. Javadian E,Nadim A, Tahvildar Bidruni Gh. Epidemiology of CL in Iran. B : Khorasan area, part 5, report on a focus of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Esferayen. Bull Soc Pathol Exot 1967; 69: 140-143.
4. Health center of Fars Province. A guide for monitoring of contagious diseases. Shiraz: Vice chancellor of Health publication; 2000: 190. (Persian)
5. Berman JD.Human leishmaniasis: clinical, diagnostic and chemotherapeutic development in the last 10 Years. Clin Infect Dis 1997; 24(4): 684-703.
6. Murray HW, Berman JD, Davis CR, et al. Advances in leishmaniasis. Lancet 2005; 4; 366(9496): 1561-77.
7. WHO. Expert Committee : Control of leishmaniasis. Technical Report Series 793. Geneva, Switzerland. WHO; 1990.
8. Kocyigit A, Erel O, Seyrek A, et al. Effect of antimonial therapy on serum zine copper and Iron concentration patients with cutaneous leishmaniasis in Turkey. J Egypt Soc Parasitol 1998; 28(1): 133-42.
9. Ardehali.S,Rezaei,HR,Nadim A. *Leishmania* parasite and leishmaniosis. 2nd ed. Tehran: Nashr Daneshgahi; 1994: 3-11. (Persian)
10. Aransay AM, Scoulica E, Tselentis R. Detection and identification of *Leishmania* DNA within naturaly infected sand flies semi nested PCR on minicircle kinetoplastic DNA. ApplEnvironMicrobiol2002;66(5): 1933–1938.
11. Hatam GR, Riyad M, Bichichi M, et al. IsoenzymecharacterizatioofIranian *Leishmania* isolates from cutaneous Leishmaniasis. Iranian J Sci Tech 2005:29(A1): 65-70.
12. ZamaniR.Epidemiologic alsurvey of patients affected to cutaneous leishmaniasis in Khonj district from Lar Township [M.D dissertation]: Shiraz Univ Med Sci; 1995. (Persian)
13. Rahmani A. Clinico-pathological survey of cutaneous leishmaniasis during 5 years in Shiraz Hospitals [M.D dissertation]: Shiraz Univ Med Sci; 1995. (Persian)
14. Ravanband-shirazi M. Study on patients affected to cutaneous leishmaniasis which referred to skin clinic of Shiraz Faghihi Hospital [M.D dissertation]: Shiraz Univ Med Sci; 1995. (Persian)
15. Habibi P,HatamGR.Newfoci of *Leishmania* major in Shiraz Township. 13th Congress of Tropical and Infectious Diseases;2004: Tehran.
16. RezanezhadH.Characterization of *Leishmania* parasites isolated from cutaneous leishmaiasis patients and its relation with parasite virulence rate via in vitro in Fars Province. [MSc dissertation]: Shiraz Univ Med Sci; 2005. (Persian)
17. Banimostafavi E. Demographic survey of cutaneous leishmaiasis in reported cases from Fars province during 1994-2004. [M.D dissertation]: Shiraz Univ Med Sci; 2006. (Persian)
18. Karamian M, Motazedian MH, Fakhar M, et al. A typical presentation of Old-World cutaneous leishmaniasis,diagnosis and species identification by PCR. J Eur Acad Dermatol Venereol 2008; 22(8): 958-62.
19. Al-Jawabreh A, Schoenian G, Hamarsheh O, et al. Clinical diagnosis of cutaneous leishmaniasis: A comparison study between standardized graded direct microscopy and ITS1-PCR of Giemsa-stained smears. Acta Trop 2006; 99(1): 55-61.
20. Marques MJ, Volpini AC, Machado-Coelho GL, et al. Comparison of polymerase chain reaction with other laboratory methods for the diagnosisof American cutaneous leishmaniasis: diagnosis of cutaneous leishmaniasis by polymerase chain reaction. Diagn Microbiol Infect Dis 2006; 54(1): 37-43.

www.SID.ir

Archive of SID

A molecular epidemiology survey of cutaneous leishmaniasis in patients referring to Parasitology Lab at Shiraz School of Medicine and the importance of PCR assay

Fakhar M* [1], Mikaeili F[2], Hatam GR[3], Habibi P[3], Karamian M[3], Motazedian MH[3], Banimostafavi E[4]

1. Dept. of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
2. Dept. of Parasitology and Mycology, School of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Dept. of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Shiraz University of Medical sciences, Sari, Iran
4. Dept. of Radiology, School of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

Journal of Jahrom University of Medical Seiences Vol. 8, No.1, Spring 2010

Abstract:

Introduction:
Fars Province is one of endemic foci of cutaneous leishmaniasis (CL). The present study aimed to conduct a molecular epidemiology survey of patients referring to Parasitology Lab at Shiraz School of Medicine and evaluate the PCR assay for the diagnosis of CL.

Material and Methods:
This retrospective study was carried out for patients referring to Parasitology department at Shiraz School of Medicine, during 1380-84. The disease was diagnosed by direct smear and staining with Giemsa; if the direct smear was negative, specific PCR was done on the DNA extracted from the direct smear to genus and species identification and culture. The data were registered and analyzed by SPSS software.

Results:
Of 186 suspected patients, 104 (56%) cases were infected with CL. PCR results were positive in 35 (56.4 %) out of 62 smears, among which microscopic examination did not reveal *Leishmania* amastigotes. Also, *Leishmania* species isolated from the patients residing in the urban and rural areas were *Leishmania tropica and Leishmania major* by species-specific primers, respectively.

Conclusion:
Since in some cases the direct smear is reported negative, we suggest using PCR methods on smears in endemic regions.

Keywords:
Cutaneous leishmaniasis, Molecular Epidemiology, Demographic, *Leishmania major, Leishmania tropica*

* Corresponding author ، E-mail: mahdif53@yahoo.com

www.SID.ir