مروری بر تکنیک‌های تشخیصی آزمایشگاهی برای لیشمانیوز

الهام دامنی*[۱]، محمد مهران امینی فرد[۲]، الناز دامنی*[۳]، وحید زراعتی[۴]

چکیده

در عصر کنونی، با وجود توسعه چشمگیر و پیشرفت‌های قابل توجه علوم در خصوص کنترل بیماری‌های عفونی؛ هنوز «بیماری‌های انگلی» از مشکلات اصلی بهداشتی جوامع به شمار می‌آیند. «لیشمانیوز»، از جمله بیماری‌های انگلی است که به عنوان مشکل بهداشتی در کشورهای استوایی، به خصوص در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری مطرح است. این بیماری ناشی از گونه‌های تک یاخته‌ای موسوم به «لیشمانیا» است که در کشورهای در حال توسعه، از جمله ایران بسیار حائز اهمیت است. «بیماری لیشمانیوز» یکی از چالش‌های بهداشتی در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری از جمله کشور ایران است. میزان بالای آندمیسیته بیماری لیشمانیازیس، شناسایی روش‌های تشخیص آزمایشگاهی لیشمانیوز را ضروری می‌سازد. از آن جا که ضایعات پوستی ناشی از لیشمانیا ممکن است با پاتوژن‌های دیگر، مانند پئودرم استرپتوکوک و پاتوژن‌های بوری اشتباه گرفته شود؛ گونه‌های مختلف لیشمانیا می‌توانند علائم مشابهی ایجاد کنند. اغلب، لیشمانیوز توسط گونه‌های مختلف ایجاد می‌شود و لذا تعیین گونه لیشمانیا مهم است.

واژگان کلیدی: لیشمانیا، مطالعه مروری، کشورهای گرمسیری.

۱. * دانشگاه علوم پزشکی ایرانشهر ، ایرانشهر، ایران.

۲. دانشگاه علوم پزشکی ایرانشهر ، ایرانشهر، ایران.

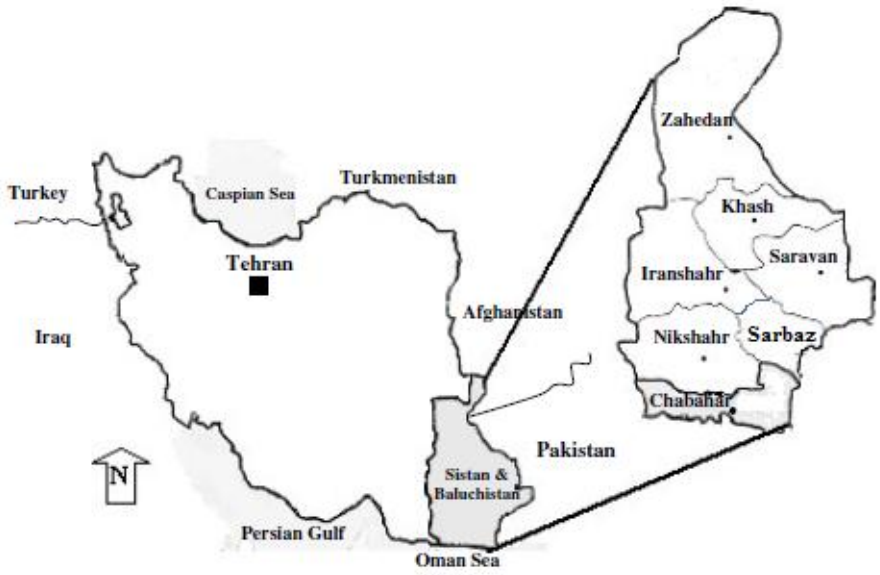
۳. * کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی ایرانشهر، ایرانشهر، ایران.

* Email: damanielham۱۳۹۳@gmail.com

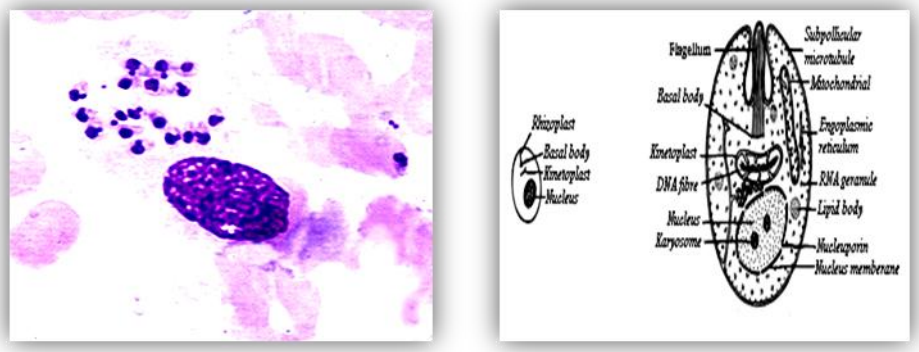
٤. دانشگاه علوم پزشکی ایرانشهر ، ایرانشهر، ایران

مقدمه

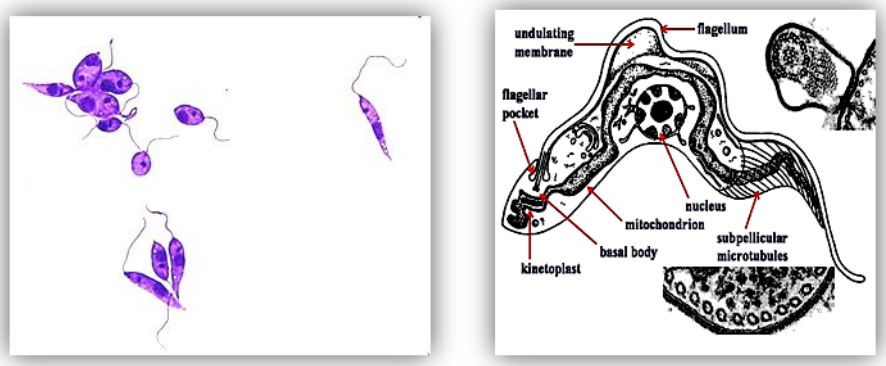
عامل لیشمانیازیس جلدی، تک یاخته‌ای از گروه تاژکداران، خانواده تریپانوزوماتیده وجنس لیشمانیا است که به وسیله گزش پشه ناقل از خانواده پسیکودیده، زیرخانواده فلبوتومینه از مخازن حیوانی (عمدتاً جوندگان و گوشتخواران اهلی و وحشی) و انسانی به فرد سالم منتقل می‌شود و علائم آن به صورت زخم‌هایی است که می‌توانند تا یک‌سال روی بدن (صورت، دست، پا و...) باقی بمانند. این بیماری به علت اهمیت بهداشتی، سال‌ها مورد توجه سازمان بهداشت جهانی بوده است (۱). بیماری لیشمانیوز به گروهی از بیماری‌های انگلی با گستردگی جهانی (به ویژه در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری) اشاره دارد که توسط انگل‌های تک‌یاخته‌ای و داخل سلولی اجباری خون و نسج، ایجاد می‌گردد. نمودها و نشانه‌های این بیماری با اشکال بسیار متنوع وجود دارد؛ از نوع ضایعات پوستی خود محدود شونده تا اشکال متاستاتیک پوستی مخاطی و کشنده نوع احشایی. این بیماری جزء بیماری‌های مشترک انسان و حیوان است. این انگل در داخل سلول‌های ماکروفاژ مهره‌داران زندگی می‌کند، تکثیر می‌یابد و توسط گونه‌های مختلف پشه خاکی به انسان و حیوان منتقل می‌گردد. (۳،٤) لیشمانیازیس پوستی یکی از عمده ترین مشکلات بهداشتی در ۱۵ استان کشور است و تقریباً ۸۰ % موارد لیشمانیازیس گزارش شده در کشور، شکل روستایی می‌باشد. تشخیص لیشمانیوز و تعیین نوع آن بر اساس علائم، روش‌های انگل‌شناسی، روش‌های ایمنولوژیک، روش‌های مولکولی و بیوشیمیایی صورت می گیرد(۵).



شکل ۱. محل بلوچستان در ایران



شکل ۲. شکل میکروسکوپی و شماتیک آماستیگوت انگل لیشمانیا



شکل ۳. شکل میکروسکوپی و شماتیک پروماستیگوت انگل لیشمانیا

شکل ۴. پشه خاکی

تشخیص آزمایشگاهی لیشمانیوز

در حال حاضر، برای تشخیص آزمایشگاهی لیشمانیوزها، با توجه به تظاهرات و دسترسی به امکانات مورد نیاز، از روش‌های زیر استفاده می‌شود:

الف) روش‌های انگل‌شناسی

معتبرترین روش تشخیصی انواع لیشمانیوزها، استفاده از روش‌های «انگل‌شناسی» است و مطلوب، آن است که همه موارد لیشمانیوز را مشاهده انگل تأیید کند(٦). از روش‌های انگل‌شناسی به عنوان «استاندارد طلایی»، برای ارزیابی دیگر روش‌های تشخیصی نیز استفاده می‌شود. متاسفانه تهاجمی‌بودن روش نمونه‌برداری برای مطالعات انگل‌شناسی، استفاده از این روش‌ها را تا حدودی با محدودیت روبه رو کرده است. روش‌های انگل‌شناسی شامل موارد زیر است:

- **مشاهده مستقیم انگل**

برای مشاهده مستقیم انگل‌های لیشمانیا باید از محل استقرار این انگل‌ها در بدن نمونه برداری شود. پس از تهیه گسترش نازک و خشک شدن آن، به وسیله یکی از رنگ‌های گروه رومانوفسکی (ترجیحاً گیمسا) رنگ‌آمیزی صورت می‌گیرد. سپس با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی × ۱۰۰۰ انگل لیشمانیا تشخیص داده می‌شود. برای افزایش حساسیت آزمایش و مشاهده بهتر اجسام لیشمن، باید سعی شود نمونه‌ها از حاشیه ضایعه،

سریعاً از چند محل تهیه شوند. بسته به نوع ضایعه پوستی و حاد یا مزمن بودن آن، روش نمونه‌گیری و مهارت تکنسین آزمایشگاه، حساسیت روش مستقیم متفاوت است (۷).

● کشت

با توجه به سادگی کشت پروماستیگوت‌ها نسبت به دیگر تک یاخته‌ها، در حال حاضر، از کشت این شکل از انگل‌های لیشمانیا، به فراوانی استفاده می‌شود.کشت پروماستیگوت‌ها، مکمل آزمایش‌های مستقیم است و در صورتی که با دقت و در محیط‌های گوناگون استفاده شود؛ حساسیتی به میزان ٦٤% تا ۱۰۰ % دارد. اصولاً در موارد زیر کشت انگل‌های لیشمانیا ضروری است:

۱. تکثیر انگل‌های لیشمانیا برای تهیه پادتن، واکسن و تعیین گونه و سویه آن‌ها؛

۲. دسترسی به تعداد فراوان انگل برای تلقیح به حیوان آزمایشگاهی؛

۳. ارزیابی داروهای گوناگون ضد لیشمانیا؛

٤. تشخیص قطعی بیماری در افراد مشکوک.

برای کشت پروماستیگوت‌ها، با توجه به هدف مورد نظر، می‌توان از انواع محیط‌های «کشت دوفازی» (مثل NNN) «نیمه جامد» و «تک فازی» (RPMI ١٦٤٠) استفاده کرد. از محیط‌های دو فازی برای نگهداری طولانی مدت پروماستیگوت‌ها در آزمایشگاه؛ از محیط‌های نیمه جامد برای حمل و نقل و انتقال انگل‌های لیشمانیا و از محیط‌های تک فازی برای رشد و تکثیر انبوه پروماستیگوت‌های لیشمانیا می‌توان بهره جست (۸) .

● تلقیح به حیوانات آزمایشگاهی

معمولاً برای تشخیص آزمایشگاهی لیشمانیوزها از حیوانات آزمایشگاهی استفاده نمی‌کنند؛ زیرا به امکانات و زمان زیادی (گاهی ٤ ماه تا ٦ ماه) نیاز است. حیوانات آزمایشگاهی به منظور جداسازی اولیه لیشمانیا در شرایط صحرایی، بررسی‌های دارویی و مطالعات همه گیری شناسی کاربرد دارند. از حیوانات آزمایشگاهی می‌توان به موش‌های نژاد خالص (BALB /c) و یا غیر خالص (Souri) و هامستر طلایی اشاره کرد (۹).

ب) روش‌های مبتنی بر تشخیص ایمنی

این روش‌ها آزمایش‌های سرولوژی برای ردیابی پادتن لیشمانیا، سنجش‌های مربوط به ردیابی ایمنی سلولی اختصاصی علیه لیشمانیا، مشتمل بر آزمون پوستی لیشمانین و بررسی‌های پاسخ پرولیفراتیو لنفوسیت‌های در گردش به پادتن‌های لیشمانیا را شامل می‌شوند(۱۰).

ج) روش‌های مولکولی

در حال حاضر، از روش‌های مولکولی، خصوصاً PCR[1] و شاخه‌های آن برای تعیین گونه انگل‌های لیشمانیا استفاده می‌شود. این روش‌ها مواردی را شامل هستند که با توجه به محاسن و کارایی آن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. این روش‌ها گذشته از داشتن حساسیت و مزایای بالا قادرند موارد عودکننده بیماری را از ابتلای مجدد تمیز دهند. از دیگر مزایای روش‌های مولکولی، می‌توان به میزان کم از ماده وراثتی، عدم تاثیر شرایط مخدوش کننده محیط و میزبان و قابلیت بررسی تعداد زیاد نمونه در زمانی کوتاه اشاره کرد. روش‌های مولکولی برای تشخیص آزمایشگاهی لیشمانیوز درحال حاضر مراحل پژوهشی را می‌گذرانند(۱۱, ۱۲).

برای اجرای PCR، از MASTERMix استفاده می‌شود. موادی که داخل میکروتیوپ‌های MASTERMix اضافه می‌شوند، آب دوبار تقطیر شده، پرایمر و DNA الگو هستند. تکنیک Nested PCR برای تعیین گونه‌های لیشمانیا با استفاده از پرایمرهای طراحی شده انجام می‌شود.

د) روش اجرای PCR

روش انجام دادن nested PCR و PCR برای ژن‌های مورد مطالعه:

در مطالعات، به منظور واکنش PCR-۱ از یک جفت پرایمر الیگونوکلئوتیدی به نام پرایمر (forward primer) IR۱) و پرایمر IR۲ (reverse primer)؛ و در PCR-۲ از پرایمر ITS۱ (forward primer) و پرایمر ITS۲ (reverse primer) استفاده می‌شود.

بحث و نتیجه‌گیری

در سال‌های گذشته، راجع به همه گیرشناسی، ناقلان، مخازن و تعیین هویت انگل لیشمانیا و عوامل لیشمانیازیس توسط محققان و استادان دانشگاه‌ها در کشور و از جمله انستیتو پاستور ایران مطالعات ارزشمندی انجام شده که نتایج این پژوهش‌ها در مجلات داخل وخارج از کشور منعکس شده است. در اغلب بررسی‌ها از روش‌های متداول مورفولوژیکی و میکروسکوپی استفاده شده است (۱۳و۱۴). در پژوهش‌ها، فقط در زمینهٔ آلودگی‌های لپتومونادی وآماستیگوتی مطالعه شده؛ امّا انگل دقیقاً جدا و تعیین گونه نگردیده است. تشخیص آلودگی‌های لیشمانیازیس با به‌کارگیری روش‌های بیوشیمیایی یا مولکولی معدود بوده است. از سوی دیگر استفاده از روش‌های مولکولی نیز بعضاً در حد اجرای PCR و مشاهده باند مربوط در ژل محدود شده و بهره‌گیری ازروش‌های پیشرفته،

[1]. PCR RAPD-PCR, RFLP-PCR , ARMS-PCR, RT-PCR Multiplex PCR, ITS-PCR

همچون تعیین توالی نوکلئوتیدی ژن مورد مطالعه و آنالیز های مولکولی و فیلوژنتیک در تعیین هویت انگل لیشمانیا ، به ندرت به کار گرفته شده است. در صورت اجرا نیز از تعداد معدودی نمونه استفاده شده است (۱۵, ۱۶). در گذشته، انگل لیشمانیا را تنها بر اساس ظاهر کلینیکی تشخیص نمی‌دادند، بلکه با توجه به الگوی متفاوت اپیدمیولوژی به خاطر تنوع زیاد گونه‌های لیشمانیا و ناقلان و میزبانان مخزن آن مشخص می‌شد؛ ولی امروزه تغییر الگوی اپیدمیولوژی لیشمانیا در مناطق مختلف اندمیک انگل در دنیای قدیم و جدید گزارش شده است. این تغییرات موارد ذیل را شامل می‌شود:

ظهور کانون‌های جدید اندمیک، گسترش انگل به مناطق جدید، حضور همزمان چند گونه از انگل لیشمانیا با ظاهر کلینیکی یکسان، تشخیص ارتباطات جدید بین انگل و ناقل، گزارش انتقال انتروپونتیک لیشمانیا اینفانتوم و انتقال زئونوتیک لیشمانیا تروپیکا وگزارش موارد جدیدی از لیشمانیای ناشناخته و طبقه بندی نشده از نمونه لیشمانیای جلدی (۱۷). به علت تعدد و تشابه شکلی گونه‌های انگل، رده بندی آن به گونه‌ها و سویه‌های متفاوت بسیار مشکل است و شواهد اپیدمیولوژیکی و بالینی نیز به تنهایی در افتراق میان گونه‌ها کارساز نیست. روش‌های مولکولی در تعیین هویت انگل تحول عظیمی ایجاد کرده است (۱۸). از آن جا که علائم پوستی ایجاد شده توسط لیشمانیا ممکن است با پاتوژن‌های دیگر، نظیر پتریوم و بورلیا استرپتوکوک اشتباه شود؛ همچنین با توجه به این‌که گونه‌های مختلف لیشمانیا ممکن است علائم مشابه ایجاد کنند و اغلب لیشمانیوزهای ناشی از گونه‌های مختلف رژیم‌های درمانی متفاوتی را می‌طلبند؛ تعیین گونه‌های لیشمانیا دارای اهمیت است (۲۳- ۱۹).

خلاصه نتایج مطالعات

میرزایی و همکاران (۲۰۱۱)، در تهران با استفاده از ژن‌های میکروساتلایتو ITS-rDNA و تکنیک‌های سکوئنسینگ و Nested –PCR در جوندگان ترکمن صحرا، ۳ هاپلوتایپ از لیشمانیا میجر، یک هاپلوتایپ مشابه از لیشمانیا توراپیکا و در جوندگان استان‌های اصفهان و فارس، ۲ هاپلوتایپ از لیشمانیا میجر را گزارش کردند.

یوتاکا (۲۰۰۸)، در ژاپن با استفاده از ژن سیتوکروم b و تکنیک‌های سکوئنسینگ و PCR،۲۸ استرین ازگونه‌های بیماری زا و غیربیماری‌زای لیشمانیا را مورد مطالعه قرار داد و مشخص شدکه این ژن برای ارتباط تکاملی بین جمعیت انگل لیشمانیا، هاپلوتایپ و افتراق گونه از تحت گونه مفید است.

تشکری و همکاران (۲۰۱۱)، در رفسنجان با استفاده از مارکرهای میکروساتلایت، ۲۵ استرین لیشمانیا میجر را مورد مطالعه قرار دادند و ۳ کلاستر ژنتیکی متفاوت را گزارش کردند.

مراغی و همکاران (۲۰۰۷)، در اهواز با استفاده از ژن kDNA و روش Nested –PCR، ۱۰۰ بیمار مبتلا به لیشمانیازیس جلدی را مورد مطالعه قرار دادند و ۹۰% لیشمانیا میجر و ۱۰% لیشمانیا تروپیکا گزارش کردند.

ساکی و همکاران (۲۰۰۷-۲۰۰۸) در استان خوزستان با استفاده از ژن Mini-Exon و روش‌های RFLP PCR و سکوئنسینگ، ۱۲۸ بیمار مبتلا به لیشمانیوزجلدی را مورد مطالعه قرار دادند و بین۹۲%-۹۹% لیشمانیا میجر گزارش کردند.

کومار و همکاران (۲۰۰۸) در پاکستان با استفاده از سکوئنسینگ ژن سیتوکروم b وتکنیک RFLP PCR، ٦٩ بیمار مبتلا به لیشمانیازیس جلدی را مورد مطالعه قرار دادند آنان در مناطق بالاتر از سطح دریا، بیش‌تر لیشمانیا تروپیکا با فراوانی% ٧٦/٢ و در مناطق پایین‌تر از سطح دریا، بیشتر لیشمانیا میجر با فراوانی ۹۷% گزارش کردند.

تشکری و همکاران (۲۰۰۷) در رفسنجان با استفاده از ژن ITS-rDNA و روش‌های PCR RFLP، سکوئنسینگ و Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP)، ٢٤ ایزوله از لیشمانیا میجر را مورد مطالعه قراردادند و ژنوتایپ LmA را به عنوان غالب‌ترین ژنوتایپ ایران و ژنوتایپ‌های LmC، LmD وLmE در منطقه دامغان و ژنوتایپ LmB در منطقه کاشان گزارش کردند.

پرویزی وهمکاران (۱۳۸۵) با طراحی پرایمرهای جدیدی از توالی نوکلئوتیدهای گونه‌های لیشمانیا و با روشNested PCR با هدف قرار دادند و قطعه از ژن ITS- rDNA بسیار حساس‌تر نمودند؛ به طوری که یک قطعه شامل (ITS۱) با ۵٫۸ (s rRNA gene) و قطعه دیگرشامل منطقه تکرار پلیمورفیک میکروساتالایت (۵′) به سمت (ITS۲) بوده است.

پرویزی و همکاران (۲۰۰۸) با تکثیر کامل و تعیین توالی ژن‌های ITS- rDNA وKDNA را طراحی کردند که این، قادر است، استرین‌های ژنتیکی لیشمانیا میجر را در پشه خاکی‌های ایران تشخیص دهد.

جهانی و همکاران (۲۰۰۳) با استفاده از تکنیک‌های رنگ‌آمیزی و کشت انگل، ٦١٠ بیمار مبتلا به لیشمانیازیس جلدی را از سال‌های ۱۹۹۷-۲۰۰۱ مورد مطالعه قرار دادند و فراوانی آلودگی را دراستان خراسان ٤٢/٢%، در استان ایلام ۱۵/۵%، در استان خوزستان ۱۵/۷%، در استان اصفهان۸/۷% و در استان بوشهر ٤/٣% گزارش کردند.

در بررسی بر روی بیماران مبتلا به سالک، مشخص شد موارد بیماری در فصل پاییز به طور معناداری افزایش یافته و بیش‌ترین موارد بیماری به ماه آذر مربوط است. همچنین فخار و همکاران در بررسی خود بر روی بیماران مبتلا به سالک در شیراز بیان کردند که موارد بیماری در فصل پاییز به طور معناداری افزایش یافته است و بیش‌ترین موارد بیماری به ماه آبان مربوط است. ضمناً نتایج مطالعات انجام شده در کانون‌های آندمیک ایران، از جمله کانون‌های مهم شیراز، اصفهان و اردستان، با مطالعه یعقوبی ارشادی در تهران مطابقت دارد. به طور کلی ضایعات پوستی سالک، معمولاً در نقاط باز بدن و جاهایی که

بیش‌تر در معرض گزش پشه خاکی است، به وجود می‌آیند. در نوع شهری، ضایعات غالباً روی صورت و در نوع روستایی بیش‌تر روی دست و پا ظاهر می‌شوند. نتایج بررسی‌ها و همچنین مطالعات و نیز شواهد اپیدمیولوژیک و مولکولی نشان می دهد گونه غالب انگل، لیشمانیا ماژور است و بین دو جنس از نظر ابتلا ارتباط معنادار وجود ندارد.

کارآیی «روش PCR» در شناسایی انگل لیشمانیا و مقایسه آن با روش «اسمیر مستقیم» و همچنین تعیین هویت گونه انگل به طور مستقیم بر روی نمونه‌های بیماران (اسمیرهای مستقیم)، بدون استفاده از روش وقت گیر و پر هزینه کشت است. روش‌های تشخیص لیشمانیوز پوستی عمدتاً بر روش‌های انگل‌شناسی و مشاهده مستقیم انگل مبتنی است. در مورد سالک نوع شهری و روستایی، «روش‌های سرولوژی» کارایی چندانی ندارند. لذا به منظور تشخیص دقیق تر بیماری و جلوگیری از تشخیص اشتباهی بهتر است از روش PCR استفاده شود. در اجرای روش PCR بر روی اسلاید رنگ‌آمیزی شده بیماران مبتلا به سالک، این روش در شناسایی موارد غیرتیپیک و مزمن، از روش مستقیم بسیار کارآمدتر است.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به اشکالاتی که در روش مشاهده مستقیم وجود دارد؛ از جمله این‌که پارازیتمی پایین از حساسیت کافی برخوردار نیست؛ توصیه می‌شود در کانون‌های بومی بیماری در صورت مشکوک‌بودن به بیماری و منفی شدن روش مستقیم، از «روش PCR اختصاصی» بر روی نمونه‌های بالینی تازه و یا اسمیرهای مستقیم رنگ‌آمیزی شده، برای شناسایی گونه انگل به منظور به کارگیری روش درمانی مؤثرتر استفاده شود. مطالعات حاکی از بالا بودن میزان آندمیسته (بومی) بیماری سالک روستایی با عامل لیشمانیا ماژور می‌باشد. همچنین بررسی‌ها ضرورت اجرای روش PCR را به طور مستقیم بر روی بیماران؛ از جمله اسمیر مستقیم (چه در موارد منفی شدن و چه در موارد تعیین گونه) تأیید می‌کند.

منابع

۱.Fidalgo LM, Ramosa IS, Parraa MG, Cuesta-Rubiob O, Hernándezb IM, Fernándezb MC, et al. NPC Natural Product Communications ۲۰۱۱. NPC Natural Product Communications.۹۷۳.

۲.Pourmohammadi B, Motazedian M, Kalantari M. Rodent infection with Leishmania in a new focus of human cutaneous leishmaniasis, in northern Iran. Annals of tropical medicine and parasitology. ۲۰۰۸;۱۰۲(۲):۱۲۷-۳۳.

۳.Nazari M. Cutaneous leishmaniasis in Hamadan, Iran (۲۰۰٤-۲۰۱۰). Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. ۲۰۱۲;۱۳(۹..٤۲-۳۹

٤.Organization WH. WHO Tech Rep Ser No. ۷۹۳. Expert committee: epidemiological aspects Control of the leishmaniasis Geneva: World Health Organization. ۱۹۹۰:٤۱-٦.

۵.Jahani M, Gharavi M, Hadi Shirzad H. Passive Detection of Cutaneous Leishmaniasis in Police Personnel Deployed in the Provinces of Isfahan, Ilam, Bushehr, Khorasan and Khuzestan, Iran. Iran J Public Health. ۲۰۰۳;۳۲:۲۳-۷.

٦.Herwaldt BL. Leishmaniasis. Lancet. ۱۹۹۹ Oct .۹-۱۱۹۱:(۹۱۸۵)۳۵٤;۲ PubMed PMID: ۱۰۵۱۳۷۲٦. Epub ۱۹۹۹/۱۰/۰۸. eng..

۷.Organization WH. Basic laboratory methods in medical parasitology: Geneva: World Health Organisation; ۱۹۹۱.

۸.Sundar S, Rai M. Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis. Clinical and diagnostic laboratory immunology. ۲۰۰۲;۹(۵):۹۵۱-۸.

۹.Gurel MS, Ulukanligil M, Ozbilge H. Cutaneous leishmaniasis in Sanliurfa: epidemiologic and clinical features of the last four years (۱۹۹۷–۲۰۰۰). International journal of dermatology. ۲۰۰۲;٤۱(۱):۳۲-۷.

۱۰.Manzur A. Sensitivity of leishmanin skin test in patients of acute cutaneous leishmaniasis. Dermatology online journal. ۲۰۰٦;۱۲(٤.(

۱۱.David CV, Craft N. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis .Dermatologic therapy. ۲۰۰۹;۲۲(٦):٤۹۱-۵۰۲.

۱۲.Lopez M, Inga R, Cangalaya M, Echevarria J, Llanos-Cuentas A, Orrego C, et al. Diagnosis of Leishmania using the polymerase chain reaction: a simplified procedure for field work. The American journal of tropical medicine and hygiene. ۱۹۹۳;٤۹(۳):۳٤۸-٥٦.

۱۳.Nazari M. Cutaneous leishmaniasis in Hamadan, Iran (۲۰۰٤-۲۰۱۰). Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. ۲۰۱۲;۱۳(۹..٤۲-۳۹

۱٤.Organization WH. WHO Tech Rep Ser No. ۷۹۳. Expert committee: epidemiological aspects Control of the leishmaniasis Geneva: World Health Organization. ۱۹۹۰:٤۱-٦.

۱٥.Jahani M, Gharavi M, Hadi Shirzad H. Passive Detection of Cutaneous Leishmaniasis in Police Personnel Deployed in the Provinces of Isfahan, Ilam, Bushehr, Khorasan and Khuzestan, Iran. Iran J Public Health. ۲۰۰۳;۳۲:۲۳-۷.

۱٦.Nadim A. Leishmaniasis. Epidemiology and control of prevalent disease in Iran Endocrine and metabolism research center ۲nd edn Tehran Academic Press, Tehran. ۲۰۰۰:٥۲٤-۳٤.

۱۷.Al-Jawabreh A, Schnur L, Nasereddin A, Schwenkenbecher J, Abdeen Z, Barghuthy F, et al. The recent emergence of Leishmania tropica in Jericho (A'riha) and its environs, a classical focus of L. major. Tropical Medicine & International Health. ۲۰۰٤;۹(۷):۸۱۲-٦.

۱۸.Baker JR, Alvar J. Molecular tools for epidemiological studies and diagnosis of leishmaniasis and selected other parasitic diseases: Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene; ۲۰۰۲.

۱۹.Rotureau B, Ravel C, Couppié P, Pratlong F, Nacher M, Dedet J-P, et al. Use of PCR-restriction fragment length polymorphism analysis to identify the main New

World Leishmania species and analyze their taxonomic properties and polymorphism by application of the assay to clinical samples. Journal of clinical microbiology. ۲۰۰٦;٤٤(۲):٤٥۹-٦۷.

۲۰.Berman J. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last ۱۰ years. Clinical infectious diseases. ۱۹۹۷;۲٤(٤):٦۸٤-۷۰۳.

۲۱.Saeedi Kia O, Badpa F, Borhani F, Mortazavi S, Mohammadzai H, Dehghani, Damani E, Ranjbar N. Investigating the absorption of phenol and aniline by bitumen from aqueous solutions. Journal of Applied Biology, ۱۳۹٦; ۷ (۲٦): ۲٥-۱٥.

۲۲. Hesaraki M, Amininfard M. Demographic study of intussusception in patients referring to Amir Al-Mo'menin Hospital of Zabol City from ۲۰۰۳ to ۲۰۱۳. Prensa Medica Argentina. ۲۰۱۷;۱۰۳(۳).

۲۳. Rezaee N, Shamsi M , Damani E, Sekandarpour S, Ranjbar N, et al. Prevalence and Epidemiologic Profile of Acute Cutaneous Leishmaniasis in an Endemic Focus in Southeast Iran, Hormozgan Med J. Online ahead of Print ; ۲۲(٤):e۸۹٤٤٤. doi: ۱۰,٥۸۱۲/hmj.۸۹٤٤٤.

Overview of Laboratory Diagnostic Techniques for Leishmaniasis

Elham Damani[۱]*, Mohammad Mehran Amini Fard[۲], Elnaz Damani[۳]*, Vahid Zraati[٤]

۱. Iranshahr University of Medical Sciences, Iranshahr, Iran

۲. Iranshahr University of Medical Sciences, Iranshahr, Iran

۳. Student Research Committee, Iranshahr University of Medical Sciences, Iranshahr, Iran

٤. Iranshahr University of Medical Sciences, Iranshahr, Iran

* Corresponding author : Elnaz Damani, Elham Damani

* Email: damanielham۱۳۹۳@gmail.com

Abstract

In the current era, despite the remarkable development of science and advances in the control of infectious diseases, parasitic diseases still a major health problem. Leishmaniasis is one of the parasitic diseases that considered as a health problem in Tropical countries of the world, especially in tropical and subtropical areas. The disease is due to protozoan species called leishmaniasis, which very important in developing countries, including Iran. Leishmaniasis is one of the health challenges in tropical and subtropical regions such as Iran. High levels of endemicity of the disease Leishmaniasis Leishmaniasis shows the need to identify methods of laboratory diagnostics. Because Skin lesions due to leishmania may be confused with other pathogens such as streptococcal pyoderma and borriya pathogens, The different species of Leishmania may cause similar symptoms Often, leishmaniasis is caused by different species of different diet regimens. The determination of Leishmania species important.

Key Words: Leishmaniasis, Overview, Tropical countries