شناسایی بیماران مبتلا به لیشمانیوز جلدی با استفاده از روش‌های مشاهده میکروسکوپی و PCR

علیشا اکیا [۱] ، یزدان حمزوی [*۲] ، ناصر نظری [۲] ، عصمت رشیدی‌تبار [۳]

۱. گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۲. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی ،دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۳. گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

* **عهده دار مکاتبات:** کرمانشاه ، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه ،دانشکده پزشکی ، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی

Email: yhamzavi@kums.ac.ir

چکیده

زمینه: لیشمانیوز در بیش از ۸۸ کشور جهان به صورت اندمیک دیده می شود و بیش از ۳۵۰ میلیون نفر به آن مبتلا هستند. تا به حال تشخیص این بیماری مبتنی بر علائم کلینیکی و مشاهده میکروسکوپی انگل‌های رنگ شده در گسترش های تهیه شده از زخم بیماران بود. امروزه روش های مختلف PCR به علت داشتن بیشترین حساسیت در تشخیص انگل، با استفاده از ژنوم هسته‌ای و یا DNA کینتوپلاستی انگل به فراوانی برای غربالگری تشخیصی بیماران مشکوک به سالک استفاده می‌شوند. در این مطالعه حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی روش مشاهده میکروسکوپی در مقایسه با روش PCR محاسبه شده است .

روش‌ها: نمونه‌های تهیه شده از زخم های ۴۵ بیمار مشکوک به لیشمانیوز جلدی که در متانول نگهداری شده بودند با روش PCR بررسی شدند. سپس همان نمونه ها را پس از رنگ آمیزی با گیمسا و مشاهده میکروسکوپی نمونه‌ها بررسی نموده و حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی این روش با در نظر گرفتن روش PCR به عنوان روش استاندارد طلایی محاسبه گردید.

یافته‌ها: حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی روش مشاهده میکروسکوپی در مقایسه با روش PCR به ترتیب ۷۱٪ ، ۱۰۰٪ ، ۱۰۰٪ و ۷۱/۹٪ محاسبه گردید.

نتیجه‌گیری: روش PCR در مقایسه با مشاهده میکروسکوپی، بیشترین توانایی را در تمایز بین افراد سالم و بیماران مبتلا به سالک دارد.

کلید واژه ها: حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی، مشاهده میکروسکوپی ، لیشمانیوز جلدی، PCR

مقدمه:

لیشمانیوز جلدی (سالک) از بیماری‌های منتقله توسط پشه خاکی و یکی از شش بیماری مهم انگلی جهان می باشد[۱،۲]. ایران یکی از کانون‌های اندمیک این بیماری در جهان است که در برخی از استان ها از جمله اصفهان ،خوزستان ، گلستان ، بوشهر و کرمان با درجات متفاوتی از اندمیستی و در بیشتر استان‌های کشور نیز به صورت اسپورادیک دیده می شود[۳-۵].

در استان کرمانشاه با توجه به تنوع آب و هوایی و شرایط اکولوژیکی متفاوت، همه ساله موارد قابل توجهی از بیماری به خصوص در مناطق گرمسیری آن مانند قصر شیرین و سرپل ذهاب گزارش می شود[۶]. حمزوی و همکاران طی سالهای ۸۵-۸۰ در مجموع ۷۲۷ بیمار [۷،۸] گزارش نموده اند. آنها در مطالعه دیگری افزایش موارد بیماری را طی سالهای اخیر در برخی از شهرستان‌های استان گزارش نموده اند[۹].

ویژگی مشترک غالب مطالعات انجام شده در کشور این است که در همه این مطالعات تعیین فراوانی بیماری بر پایه آزمایش مستقیم میکروسکوپی بوده است[۳-۹]. در این روش که امروزه در بسیاری از آزمایشگاه‌های ایران و جهان، روشی معمول برای تشخیص بیماری می باشد، از سروز زخم بیماران مشکوک به لیشمانیوز جلدی گسترش تهیه شده و پس از رنگ آمیزی با گیمسا و مشاهده اجسام لیشمن، بیماری تشخیص داده می شود. عوامل متعددی می تواند در میزان حساسیت این روش

برای تشخیص بیماری مؤثر باشند از جمله محل نمونه گیری از زخم، تبحر فرد نمونه گیر، نمونه گیری با کمترین خونریزی از محل، میزان تبحر میکروسکوپیست در تشخیص اجسام لیشمن، کم یا زیاد بودن اجسام لیشمن در نمونه. بر این اساس می توان گفت که تمامی مطالعات اپیدمیولوژیک انجام شده در ایران و استان کرمانشاه که بر اساس روش میکروسکوپی بوده است، نمی‌توانند نشان دهنده‌ی میزان شیوع و بروز واقعی بیماری در افراد مشکوک به بیماری باشند. روش‌های مولکولی به دلیل توانایی فوق العاده آنها در تشخیص تعداد کم انگل موجود در نمونه های بالینی بدست آمده از بیماران، حساسیت بسیار زیادی را در تشخیص بیماران نشان می دهند. این امر سبب شده که روش‌های مولکولی مانند روش PCR روش استاندارد طلایی برای تشخیص بیماری محسوب شوند[۱۰].

حساسیت (sensitivity) نمایانگر قدرت تست در تشخیصِ صحیح افراد بیمار است .به عبارت دیگر نشان میدهد که چند درصد از بیماران با این تست بیمار تشخیص داده می شوند اما ویژگی (specificity) توانایی تست در تشخیص سالم بودن افرادی است که بیمار نیستند. به عبارت دیگر نسبتی از افراد سالم که نتیجه تست آنها منفی شده است . ویژگی تنها از طریق محاسبه با افراد سالم بدست می‌آید و در مورد امکان اینکه برخی بیماران به اشتباه سالم تشخیص داده شوند و تعداد آن‌ها اطلاعاتی نمی‌دهد. ارزش اخباری مثبت (positive predictive power) بیانگر درصد بیماران در افرادی است که نتیجه تست آنها مثبت بوده است بنابراین این شاخص احتمال صحیح بودن یک تست مثبت را نشان می دهد پس برای محاسبه آن باید به افرادی توجه کرد که نتیجه تست برای آنها مثبت بوده است. اما ارزش اخباری منفی (negative predictive power) بیانگر درصد سالم ها، در افرادی است که نتیجه تست آنها منفی بوده است. بنابراین این شاخص احتمال صحیح بودن یک تست منفی را نشان می‌دهد پس برای محاسبه آن باید به افرادی توجه کرد که نتیجه تست برای آنها منفی بوده است. چهار مفهوم مطرح شده از مفاهیم بسیار مهم در زمینه ابزارهای سنجش، بویژه آزمون‌ها و تست‌های تشخیصی و غربالگری محسوب می‌شوند و در تعیین میزان سودمندی بالینی (clinical utility) ابزارهای سنجشی اهمیت دارند. یک آزمون ایده‌آل، دارای ۱۰۰٪ حساسیت و ۱۰۰٪ ویژگی است، ولی در عمل چنین حالتی همیشه به طور نسبی رخ می‌دهد[۱۱].

در این مطالعه که برای اولین بار در استان کرمانشاه انجام شده است، حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی مشاهده میکروسکوپی نمونه‌های رنگ آمیزی شده با گیمسا برای تشخیص بیماران مشکوک به لیشمانیوز جلدی با در نظر گرفتن روش PCR به عنوان روش استاندارد طلایی محاسبه شده است.

مواد و روش‌ها:

برای محاسبه حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی روش مشاهده میکروسکوپی در تشخیص بیماران مبتلا به لیشمانیوز جلدی روش مولکولی PCR به عنوان روش استاندارد طلایی در نظر گرفته شد. ابتدا زخم و حاشیه آن را با گاز استریل آغشته با الکل ۷۰٪ تمیز کرده و با استفاده از لانست استریل سروز زخم جمع آوری گردید و به هر کدام از نمونه های بیماران یک کد اختصاص داده شد. مقداری از نمونه های سروز جهت انجام روش مولکولی در لوله های ۱.۵ میلی لیتر حاوی الکل اتانول خالص ریخته شده و در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری گردیدند. از بخش دیگر سروز زخم هر بیمار نیز یک اسمیر تهیه شده و پس از فیکاسیون با متانول با رنگ گیمسا رنگ آمیزی شدند. اسمیر ها با میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی ۱۰۰ × برای دیدن انگل لیشمانیا بررسی شدند.

برای انجام روش مولکولی PCR نمونه‌های نگهداری شده در فریزر را سانتریفیوژ کرده و پس از خارج کردن مایع رویی، DNA انگل با استفاده از کیت (DNA purification kit, Qiagen) از رسوب نمونه ها جدا گردید. نمونه های DNA جدا شده در لوله های ۱/۵ میلی لیتر استریل در فریزر ۲۰- نگهداری گردیدند. سپس با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انگل های جنس لیشمانیا بر روی DNA های جدا شده PCR انجام گردید و بر روی محصول حاصله الکتروفورز در کنار مارکر مشخص انجام شد[۱۲،۱۳]. بدین ترتیب وجود یا عدم وجود

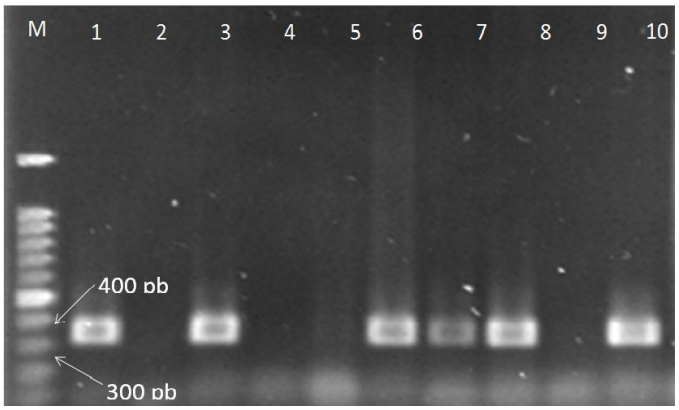
ژنوم خاص انگل‌های لیشمانیا تعیین گردید. نتایج بررسی مولکولی نمونه ها همراه با نتایج مشاهده میکروسکوپی لام ها و اطلاعات بیماران در فایلی وارد شده و حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی روش مشاهده میکروسکوپی محاسبه گردید. پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه به شرح ذیل می باشند:

Primers	Target gene	Primers' sequences	Amplicon size (bp)
F	Kinetoplast DNA mini-exon gene repeat	5'-TAT TGGTAT GCG AAA CTT CCG-3')	220-443
R		5'-ACA GAA ACT GAT ACT TAT ATA GCG-3'	
ITS1F	the ribosomal internal transcribed spacer 1=LITSR	5'- CTGGATCATTTTCCGATG-3'	300-350
ITS1R		5'-TGATACCACTTATCGCACTT-3'	

نتایج:

از ۴۵ نمونه سروز زخم بیماران مشکوک که به روش رنگ آمیزی و مشاهده میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفتند در ۲۲ مورد اجسام لیشمن مشاهده گردید (تصویر۱). همچنین در بررسی مولکولی ۴۵ نمونه ترشحات سروز بیماران با روش PCR تعداد ۳۱ نمونه در محدوده pb ۴۰۰-۳۵۰، باند مشخص مربوط به جنس لیشمانیا را نشان دادند که حاکی از مثبت بودن نمونه های مزبور بود (تصویر۲).

تصویر ۱: دو نمونه از بیمارانی که ضایعات لیشمانیوز جلدی بر روی صورت و پای آنها مشاهده می شود.



تصویر ۲: نمونه ای از ژل محصول PCR نمونه های بیماران مشکوک به لیشمانیوز جلدی
(M مارکر DNA، ۱ کنترل مثبت، ۲ کنترل منفی، ۳ تا ۱۰ نمونه های بیماران)

بنا براین در ۹ مورد از بیماران مشکوک به لیشمانیوز جلدی که نتیجه آزمایش میکروسکوپی آنها منفی شده بود با استفاده از روش PCR مثبت شدند. در جدول ۱ نتایج روش میکروسکوپی و PCR در تشخیص بیماران مبتلا به سالک با هم مقایسه شده‌اند.

جدول ۱ . مقایسه نتایج تشخیصی روش PCR و روش مشاهده میکروسکوپی در تشخیص بیماران مشکوک به لیشمانیوز جلدی

نتایج	مثبت		منفی		جمع
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
روش میکروسکوپی	۲۲	٪۴۸.۹	۲۳	٪۵۱.۱	۴۵
روش PCR	۳۱	٪۶۸.۹	۱۴	٪۳۱.۱	۴۵

با در نظر گرفتن روش PCR به عنوان روش استاندارد طلایی برای تشخیص بیماری و در نظر گرفتن حساسیت و ویژگی ۱۰۰٪ برای این روش[۱۳]، می توان حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی روش مشاهده میکروسکوپی را تعیین نمود .جدول (۲).

جدول ۲ - مقایسه حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی روش PCR و روش میکروسکوپی در تشخیص بیماران مشکوک به لیشمانیوز جلدی

اندازه‌های آماره‌ای	روش میکروسکوپی	روش مولکولی PCR
موارد مثبت شناسایی شده	۲۲	۳۱
موارد منفی شناسایی شده	۲۳	۱۴
موارد مثبت کاذب	۰	۰
موارد منفی کاذب	۹	۰
حساسیت	٪۷۱	٪۱۰۰
ویژگی	٪۱۰۰	٪۱۰۰
ارزش اخباری مثبت	٪۱۰۰	٪۱۰۰
ارزش اخباری منفی	٪۷۱/۹	٪۱۰۰

بحث:

همه نمونه‌های که با روش میکروسکوپی مثبت شده بودند در روش مولکولی نیز مثبت شدند. در مقابل هیچ نمونه‌ای را نداشتیم که با روش میکروسکوپی مثبت ولی در روش مولکولی منفی شده باشد. این امر حاکی از حساسیت بیشتر روش مولکولی PCR نسبت به روش میکروسکوپی بود. در مورد روش میکروسکوپی حساسیت تست ۷۱٪ بدست آمد و این بدین معنی است که فردی که با این تست سالم تشخیص داده

می شود، فقط ۷۱٪ احتمال دارد که جواب ما درست باشد. در این مطالعه حساسیت روش میکروسکوپی حدود ۲۹٪ کمتر از روش مولکولی PCR بود. به عبارت دیگر در ۲۹٪ از موارد ، بیماران مشکوک به لیشمانیوز جلدی با روش میکروسکوپی شناسایی نمی شوند و به عنوان منفی کاذب در نظر گرفته می شوند. به همین دلیل است که در روش میکروسکوپی ارزش اخباری منفی تست، ۷۱/۹٪ بدست آمد. این بدان معنی است که در گزارش‌های آزمایشگاهی که با روش میکروسکوپی انجام می شود، تنها با اطمینان ۷۱/۹٪ می توان به صحیح بودن تشخیص اعتماد نمود.

اما در روش میکروسکوپی به دلیل اینکه فرد آزمایش کننده اجسام لیشمن را ملاحظه میکند و با دیدن جسم لیشمن هر گونه شکی در مورد تشخیص انگل از بین می رود، لذا ویژگی و نیز ارزش اخباری مثبت این روش در تشخیص لیشمانیوز جلدی ۱۰۰٪ است. البته این امر بستگی تام به تبحر و دقت فرد آزمایش کننده در تشخیص جسم لیشمن دارد. بدیهی است اگر فرد آزمایش کننده توانایی و مهارت کافی در شناخت اجسام لیشمن که گاهی به دلیل دستکاری و یا استفاده از برخی داروها و ضمادها ، به اشکال آتیپیک در می آیند، را نداشته باشد؛ ویژگی و ارزش اخباری روش میکروسکوپی کمتر خواهد شد. در این مطالعه در روش میکروسکوپی ویژگی و ارزش اخباری تست ۱۰۰٪ بدست آمد و این بدین معنی است که اگر فردی در این تست بیمار تشخیص داده شود به احتمال ۱۰۰٪ بیمار بوده و با اطمینان ۱۰۰٪ می‌توان به تشخیص های مثبت اعتماد نمود.

Esther و همکاران نیز با مقایسه روش های مختلف PCR با روش میکروسکوپی و کشت، میزان حساسیت و ویژگی روش میکروسکوپی را به ترتیب ۷۴.۴٪ و ۱۰۰٪ ، و ارزش اخباری مثبت و منفی آن را نیز به ترتیب ۱۰۰٪ و ۴۱/۲٪ گزارش نمودند. آنها نتیجه گیری کرده اند که استفاده از kDNA PCR حساس‌ترین روش برای تشخیص لیشمانیوز جلدی بوده است [۱۴]. رتینگر و همکاران نیز در مطالعه خود حساسیت و ویژگی روش PCR را در تشخیص لیشمانیوز جلدی ۱۰۰٪ گزارش نموده اند [۱۰].

در مطالعه میرزایی و همکاران که بر روی ۲۱۸ بیمار مشکوک به سالک انجام شده است توانسته‌اند در ۴۸٪ از افراد با روش PCR-RFLP عامل لیشمانیا را شناسایی کنند، در حالی که با روش بررسی میکروسکوپی فقط در ۳۵٪ موارد توانسته اند انگل را شناسایی نمایند. آنها نتیجه گرفته اند که در ۲۵.۹۶٪ از بیماران روش میکروسکوپی در مقایسه با روش مولکولی نتوانسته است اجسام لیشمن را شناسایی نماید [۱۵].

مهمترین محدودیت شاخص‌های حساسیت و ویژگی این است که اگرچه آن‌ها اندازه‌های مهمی برای تشخیص میزان درستی یک تست هستند، با این‌حال برای کمک به بالینگر در برآورد میزان احتمال اینکه یک فرد، بیمار هست یا نه کاربرد عملی ندارند. آنچه که برای صحت تشخیص‌گذاری در کار بالینی روزمره کمک بیشتری به ما می‌کند قدرت‌های پیش‌بینی تست ها هستند. ارزش‌های پیش‌بینی مثبت و منفی، احتمال بیمار بودن یک فرد را بر اساس نتایج تست او بیان می‌کنند.

ارزش پیش‌بینی یک تست بوسیله حساسیت و ویژگی آن تست و میزان شیوع وضعیت و بیماری‌ای که مورد سنجش قرار می‌گیرد، تعیین می‌شود. توجه به این نکته بسیار مهم است که هر دو ارزش پیش‌بینی (منفی و مثبت) بر اساس میزان شیوع بیماری، تغییر خواهند کرد. بنابراین اینکه پژوهشگر یا بالینگری از ارزش‌های مثبت و منفی تستی که در جمعیتی با میزان خاصی از شیوع بیماری محاسبه شده و بدست آمده برای جمعیتی دیگر با میزان متفاوتی از شیوع آن بیماری استفاده کند، اشتباه است. هم‌چنین باید در نظر گرفت که حتی در یک منطقه جغرافیایی یکسان، میزان ارزش‌های پیش‌بینی مثبت و منفی بر اساس موقعیت‌های مراقبت اولیه، ثانویه و ثالثیه، متفاوت خواهد بود (با توجه به میزان شیوع متفاوت بیماری در این موقعیت‌ها). زمانیکه در جمعیتی شیوع بیماری پایین باشد، میزان قدرت پیش‌بینی مثبت نیز کم خواهد بود حتی اگر از تستی با میزان بالای حساسیت و ویژگی استفاده شود.در چنین وضعیتی،ممکن است میزان قابل‌توجهی از افراد با نتیجه مثبت، واقعا بیمار نباشند. معنای این حالت در کار بالینی این است که میزان سودمندی

نتیجه یک تست برای یک فرد خاص به میزان شیوع بیماری در جمعیت آزمون شده بستگی دارد[11].

بطور خلاصه، حساسیت و ویژگی، اندازه‌های آماری هستند که برای سنجش میزان دقت و اعتبار یک آزمون در تشخیص درست ویژگی مورد نظر به کار می‌روند اما از آنجایی که بوسیله آن‌ها نمی‌توان میزان احتمال دارا بودن ویژگی مورد نظر را در یک فرد خاص برآورد کرد از ارزش‌های پیش‌بینی مثبت و منفی استفاده می‌شود که البته آن‌ها هم طبق میزان شیوع متفاوت آن خصیصه در جمعیت متفاوت خواهند بود و استفاده از آن‌ها در جمعیت‌های مختلفی که میزان شیوع متفاوتی از یک خصیصه را دارند بدون دانستن میزان شیوع خاص آن جمعیت، اشتباه و نادرست است[11].

نتیجه گیری :

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان حساسیت و ارزش اخباری منفی روش میکروسکوپی به طور قابل توجهی کمتر از روش مولکولی بود. محدودیت های موجود در به کارگیری روشهای مولکولی به عنوان روش انتخابی و استاندارد برای بیماران مشکوک به لیشمانیوز، مانع از توسعه کاربردی این روش‌ها در بسیاری از آزمایشگاه‌های کشورهای جهان و ایران باشد. شاید در آینده با ابداع روش‌های آسانتری برای شناسایی قطعات ژنوم اختصاصی جنس لیشمانیا در آزمایشگاه‌ها، بتوان با سرعت، حساسیت و ارزش اخباری بیشتر اقدام به شناسایی بیماران مبتلا به لیشمانیوز نمود.

تقدیر و تشکر:

نویسندگان لازم می دانند از حوزه معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه که حمایت و بودجه لازم برای انجام این تحقیق را فراهم نمودند تشکر و قدر دانی نمایند. همچنین از خانم ها پریسا فیض و نیوشا کریمی دانشجویان رشته پزشکی که درانجام این طرح ما را یاری نمودند تشکر می گردد.

References:

1. World Health Organization.Cutaneous leishmaniasis. Weekly Epidemiol. Rec.2002;77: 246.

2. World Health Organization. Control of the leishmaniasis, Report of a WHO expert committee ,Technical Report Series.1990; 793:158.

3. Ardehali S,Rezaii R,Nadim A,[The leishmania parasites and Leishmaniasis (Persian)]1st ed.Tehran ,Tehran university press,1994:1-25.

4. Hamzavi Y, Mohebali M, Edrissian GH H, Foruzani A R. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis (human infection and animal reservoirs) in Dashti and Dashtestan districts, Bushehr province. J of Behbood. 2000;29(1-4):177-190.

5. Hamzavi Y, Edrissian Gh H, Mohebali M, Foruzani A R. Frequency of cutaneous leishmaniasis in Bushehr province, 1983-1999. J of Behbood. 2001;5(3):1-8.

6. Hamzavi Y. Epidemiological study of cutaneous leishmaniasis (CL) in different districts of Kermanshah province, Iran. Iranian J.Parasitolo.2010; Supplementary Issue,5(S1):51.

7. Y Hamzavi, S A Sobhi, Rezaei M. Epidemiological features of cutaneous leishmaniasis in patients referred to health centers of Kermanshah Province, 2001-2006. J of Behbood. 2009;2(41):151-161.

8. Hamzavi Y, Khademi N. Analysis of cutaneous leishmaniasis in Kermanshah province, in the years 2011-12 . J Kermanshah Univ Med Sci,2013;17(9):582-89.

9. Hamzavi Y.Khademi N.Trend of cutaneous leishmanisis in Kermanshah province,west of Iran from 1990 to 2012.Iran J Parasitol.2015;10(1):78-86.

10. Reithinger R, Dujardin J. Molecular diagnosis of leishmaniasis: current status and future applications. J Clin Microbiol, 2007;45(1):21–25.

11.Yaseri M, Syekaninejad M ,Pakpour A, Rahmani S, Rangin H, Akaberi A. Self-Learning concepts of diagnostic tests by graphical approach: sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value. J North Khorasan Univ Med Sci. 2012;4(2):275- 282.

12. Marfurt J, Niederwieser I, Makia ND, Beck HP and Felger I. Diagnostic genotyping of Old and New World Leishmania species by PCR-RFLP. Diagn Microbiol Infect. Dis. 2003;46:115–124.

13. Noyes HA, Belli AA and Maingon R. Using of various RAPD-PCR primers for Leishmania identification. Am J Trop Med Hyg. 1996;55:98-105.

14. Esther B, Abedelmajeed N, Flory J, Lionel FS and Charles LJ. Comparison of PCR Assays for

Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis. J Clin Microbio. 2006; 44(4):1435–1439.

15. Mirzaie F, Eslami G, Yosefi MH, Pestehchian N. Molecular identification of Leishmania isolates obtained from patients suspected as having cutaneous leishmaniasis referred to reference laboratories from Yazd province in central Iran. Advanced Biomed Research, 2013;2(4).Available from http://www.advbiores.net on Saturday, December 07, 2013; IP: 188.159.246.74.

Identification of patients with Cutaneous Leishmaniasis using microscopic observation and PCR methods

Alisha Akia[1], Yazdan Hamzavi[2*], Naser Nazari[2], Esmat Rashiditabar[3]

1. Department of Medical Microbiology, School of medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah,Iran

2. Department of Medical Parasitology and Mycology,School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah,Iran

3.Department of Medical Laboratory Sciences, School of Paramedicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah,Iran

***Corresponding Author:**

Kermanshah, Kermanshah University of Medical Sciences, School of Medicine,Department of Medical Parasitology and Mycology.

Email: yhamzavi@kums.ac.ir

Abstract

Introduction: Leishmaniasis is endemic in more than 88 countries and threatens more than 350 million people. Until recently, diagnosis was based primarily on clinical symptoms and microscopic observation of parasites in stained tissue smears.PCR methods using either genomic or kinetoplast DNA (kDNA) are now frequently used as the most sensitive test for screening the suspected patients of cutaneous Leishmaniasis. In this study, we calculated the sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of microscopic observation in diagnosis of cutaneous Leishmaniasis compared with the PCR technique as the gold standard.

Methods: Skin biopsies stored in ethanol from 45 patients with suspected cutaneous Leishmaniasis (CL) were tested in a polymerase chain reaction (PCR) assay as the gold standard. Then the sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of conventional diagnostic method of microscopic observation of Giemsa stained smears were calculated.

Results: The sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of conventional diagnostic method of microscopic observation was 71%, 100%, 100% and 71.9%, respectively.

Conclusion The PCR technique has the more ability in distinguishing healthy subjects from patients than microscopic observation of Giemsa stained smears.

Key words sensitivity, specificity, positive and negative predictive value, microscopic observation, cutaneous Leishmaniasis, PCR

How to cite this article

Akia A, Hamzavi Y, Bakhtiari N, Rashiditabar E . Identification of patients with Cutaneous Leishmaniasis using microscopic observation and PCR methods . J Clin Res Paramed Sci 2016; 5(3):198-205.