مجلـــه علمـــی پـژوهشـی دانشگـاه علـــوم پزشکـی اردبیـــل

دوره هفتم، شماره چهارم، زمستان۱۳۸۶، صفحات ۳۳۱ تا ۳۳۷

بررسی مقایسه ای دو روش Slit skin smear و PCR در تشخیص مایکوباکتریوم لپر در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان بابا باغی تبریز

پیمان آذغانی [۱]، دکتر علیرضا سمر باف زاده [۲]، دکتر احمد فرج زاده شیخ [۳]، دکتر فرانسوا فیوال [٤]، دکتر علیرضا خرمی فر [٤]

[۱]نویسنده مسوول: دانشجوی باکتری شناسی پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل **E-mail:** Paymanazghani@yahoo.com

[۲]دانشیار ویروس شناسی دانشگاه علوم پزشکی اهواز [۳] دانشیار میکروبشناسی دانشگاه علوم پزشکی اهواز [٤]پزشک عمومی

چکیده

زمینه و هدف: مایکوباکتریوم لپر عامل بیماری جذام می باشد که یک بیماری مسری است که در اغلب کشور های در حال توسعه دیده میشود.این بیماری بسبب ایجاد علایم بالینی ناخوشایند و ناتوانیهایی که ایجاد میکند نا م آن همواره با ترس و وحشت همراه بوده است.بیشترین زمان تقسیم را در بین باکتریها دارد (۱٤-۱۲روز). دوره کمون آن طولانی بوده و ٤۰ سال هم گزارش شده است. اثرات باقیمانده از بیماری حاصله (جذام) غیر قابل برگشت بوده و بار روانی و اجتماعی سنگینی بر فرد و اجتماع دارد سازمان بهداشت جهانی ۹۱ کشور را در لیست مناطقی قرار داده است که جذام هنوز هم در این کشورها یک مشکل میباشد. هدف اصلی این تحقیق تشخیص زود هنگام و دقیق بیماری قبل از بروز علا یم بالینی ناخوشایندو نها دینه کردن روش مولکولی PCR بجای روش قدیمی Slit skin smear است که روش دقیق و قابل اعتمادی نمی باشد.

روش کار: در این تحقیق از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان با با باغی با تیغ جراحی از نرمه گوشها وابروها نمونه برداری شده (Slit Skin) و پس از تهیه گسترش بر روی لام رنگ آمیزی اسید فست شده و بررسی میکروسکوپی شدند. همزمان با بررسی میکروسکوپی نمونه بیوپسی نیز از بیماران برداشته شد تا با PCR نیز تشخیص داده شوند.

یافته ها: از ٤۰ نمونه Slit Skin تنها ۳ نمونه (۷/۵٪) لام مسقیم مثبت داشتند که تشخیص آنها فرم LL بوده است. در حالیکه از ٤۰ نمونه بیوپسی ۱٤ مورد(۳۵ ٪) با روش PCR نتیجه مثبت داشتند. بقیه ۱۱ مورد مثبت احتمالاً به فرم TT یا فرمهای بینابینی(BB,BT,BL) مبتلا بوده اند.

نتیجه گیری: در این تحقیق مشخص شد که روش لام مستقیم با رنگ آمیزی اسید فست روش دقیق و مطمئنی برای تشخیص بیماری جذام نمی باشد بویژه در فرم TT که همیشه لام مستقیم منفی است. همچنین روش لا م مستقیم و علایم بالینی در تخمین میزان شیوع بیماری نیز روش دقیق و مطمئنی نمی باشد.

واژه های کلیدی: توبرکولوییید توبرکولوییید، لیروماتوز لیروزی، PCR، لیروزی، باباباغی، اسلیت اسکین اسمیر، مایکوباکتریوم لیر

دریافت: ۸۵/۷/۱۹ **پذیرش:** ۸۶/۲/۱۰

مقدمه

بیماری جذام یک بیماری مسری نسبتاً شایع در کشورهای جهان سوم و کشورهای در حال توسعه می باشد. عامل بیماری Mycobacterium leprae می باشد که یک باکتری داخل سلولی اجباری و غیر قابل کشت در محیط های کشت مصنوعی بوده و همانند باکتری عامل سل یک باکتری اسید فست می باشد یعنی در برابر خاصیت رنگ بری اسید ا لکل مقاومت می کند که این خصوصیت بخاطر وجود Mycolic acid در دیواره سلولی باکتری می باشد. میزان اسید فست بودن این باکتری نسبت به باکتری عامل سل بیشتر

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-12-26]

می باشد.این باکتری با داشتن زمان تقسیم ۱۲ روز بالا ترین زمان تقسیم را در بین باکتریها دارد [۲،۱].

تا سال ۱۸۷۳ عامل بیماری ناشناخته بود و باور بر این بود که مبتلایان نفرین شدگان خداوند هستند و این باور به این خاطر بوده است که مبتلایان ظاهری بسیار ناخوشایند و زشت داشتند[۲].

تا اینکه در همین سال (۱۸۷۳) دکتر Gerhard Armauer Hansen که اهل کشور نروژ کنونی بود عامل بیماری را کشف کرد[۲]. .

بیماری جذام به دو فرم اصلی LL(Lepromatous Leprosy) و TT(Tuberculoid Tuberculoid) تقسیم بندی شده است که بعد از طبقه بندی Ridely & Jopling در سال ۱۹۶۶ به شش فرم زیر طبقه بندی شد :

LL(Lepromatous Leprosy)
BL(Borderline Leprosy)
TT(Tuberculoid Tuberculoid)
BT(Borderline Tuberculoid)
BB(Borderline Borderlin)
HI(Indeterminant)

تشخیص بیماری براساس علایم بالینی و بررسی لام میکروسکوپی رنگ آمیزی شده با روش اسید فست و تست پوستی لپرومین انجام می گیرد. دور کمون بیماری ۲۴-۶ ماه بوده و تا ٤٠ سال هم گزارش شده است. در فرم LL نمونه Slit Skin رنگ آمیزی شده با روش ا سید فست مثبت بوده و باسیلها در لام محیطی به رنگ قرمز در زمینه آبی دیده میشوند اما تست پوستی لپرومین منفی دارد.در این فرم علایم پوستی از جمله پر رنگ تر و یا کمرنگ تر شدن محل ضایعه معمولا قرینه بوده و در دو طرف بدن دیده می شود. بی حسی موضعی در محل ضایعه و حتی در سایر نقاط بدن نیز دیده می شود.

التهاب بیضه و افتادگی پلکها و دستها و پاها و اختلا ل در صحبت کردن بخاطر گرفتاری اعصاب منطقه، دیده می شود. بروز ندولهای قرمز رنگ که با شروع درمان وضع آنها وخیمتر می شود (ENL یا Erythema Nodusom Leprosum) از مشخصات بارز این فرم می باشد. ولی در فرم توبرکولوئید علائم با لینی خفیف تر از نوع لپروماتوز بوده و تظاهرات با لینی اشاره شده یک طرفه می باشد.در فرم LL ظهور بیماری، حاصل Anergy سیستم ایمنی بدن بوده و نسبت سلول های +CD-8+/CD-4، 2:1 می باشد. یعنی سلول ها ی-T suppressor قسمت اعظم سلول های ایمنی را تشکیل داده و به تبع وجود آنها سیتوکینهای -IL, IL-5 , IL-4 10 در بدن افزایش می یابد. اما در فرم TT نسبت سلولهای +T-cell CD- 4 به +T-cell CD-8 , 2:1 بوده وسلولهای Cytotoxic قسمت اعضم سلول های ایمنی را تشکیل می دهند.

در این فرم سیتوکینهای γ -INF و IL-12 و IL-2 در بدن افزایش می یابد. در فرم TT نمونه لام Slit Skin رنگ آمیزی شده به روش اسید فست همیشه منفی بوده ولی تست پوستی لپرومین مثبت می باشد. اختلا ف نتایج تستهای مذکور مربوط به نوع پاسخ ایمنی بدن نسبت به باکتری می باشد نه به جنس یا گونه باکتری . تست پوستی لپرومین ارزش تشخیصی ندارد چون در مناطق اندمیک اکثر ا فراد نسبت به این تست جواب مثبت می دهند.در واقع یک تست برای بررسیهای اپیدمیولوژیک می باشد[۳]. در فرمهای بینا بینی یا Borderline علا یم بالینی و تستهای Slit Skin و تست پوستی لپرومین نتایجی ما بین دو فرم اصلی TT و LL دارند[۲].

با توجه به ا ینکه علا یم بالینی ایجاد شده بوسیله این باکتری بسیا ر ناخوشایند و غیرقابل برگشت بوده از جمله فلج دست و پا و چنگی شدن دستها و افتادگی پلکها بخاطر گرفتاری اعصاب و خوردگی غضروفها و استخوانها ، مبتلا یان به این بیماری از خانواده و اجتماع طرد شده و دیگر هیچ پناهگا هی ندارند چون هیچ آسایشگاهی آنها را نمی پذیرد حتی آسایشگاه بابا باغی هم که قبلاً این بیماران در آنجا اسکان داده می شدند دیگر پذیرای سکونت بیماران نبوده و فقط محل تشخیص و درمان بیماران می باشد.

هر ساله حدود ۷۰۰۰۰۰ مورد جدید در دنیا گزارش می شود [۳-۱]. با توجه به موارد ذکر شده بکار بردن روشی که دقیق و مطمئن بوده و بتواند قبل

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-12-26]

از بروز علا یم بالینی بیماری را تشخیص دهد کاملاً ضروری به نظر می رسد چون در حال حاضر تشخیص فقط بوسیله لا م مستقیم و علا یم بالینی صورت می گیرد. تست پوستی لپرومین هم بخاطر عدم تولید آن انجام نمی شود.

امروزه روشهای مولکولی برای تشخیص دقیق بیماریها ی عفونی بخصوص آنهایی که دوره کمون طولا نی دارند بکار برده می شوند از جمله PCR که در این تحقیق از این روش استفاده شده است. این تحقیق برای تشخیص دقیق تر و مطمئن تر و همچنین مقایسه دو روش Slit skin smear و PCR انجام گرفته است. بیماران در صورت تشخیص اولیه توسط پزشک به تنها مرکز تشخیص و درمان بیماری یعنی بیمارستان بابا باغی معرفی شده ودر صورت تشخیص بر اساس علایم با لینی و لام مستقیم تحت در مان قرار می گیرند که برخی از بیماران به لحاظ فرهنگی و اجتماعی و بعد مسافت و هزینه بر بودن مراجعه به بیمارستان بابا باغی از رفتن به این مرکز خودداری می نما یند در صورتیکه اگر تست PCR در برخی از شهرهای کشور انجام شود هم تشخیص دقیق و به موقع انجام شده و هم در هزینه ها صرفه جویی شده و مهمتر از همه اینکه از بار سنگین روانی بیماران کاسته می شود. در بر خی از کشورها نیز روش PCR برای تشخیص بیماری جذام انجام گرفته و نتایج مشابه وقابل اعتمادی بدست آمده است.

روش کار

از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان بابا باغی که تنها مرکز تشخیص و درمان بیماری جذام در ایران است با تیغ جراحی از نرمه گوشها وابروها نمونه برداری شده (Slit Skin) و پس از تهیه گسترش بر روی لام رنگ آمیزی اسید فست شده و بررسی میکروسکوپی شدند. همزمان با بررسی میکروسکوپی نمونه بیوپسی با Punch ۲/۵-٤ mm ازبیماران برداشته شده در داخل میکروتیوبهای حاوی PBS(Phosphate buffer solution) فریز و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. PBS از مواد زیر تشکیل شده است: سدیم دی هیدروژن فسفات، پتاسیم دی هیدروژن فسفات، کلرید سدیم و کلرید پتاسیم.

نمونه های بیوپسی ابتدا در یخچال ۱۰-٤ درجه سانتیگراد وسپس در دمای اطاق ذوب شدند.PBS موجود در میکروتیوبهاخالی شده سپس به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر Protease Buffer که حاوی Guanidium Thiocyanate ، EDTA و Triton X-100 می باشد، روی نمونه بیوسپی ریخته شده ونمونه ها با سرسملپر استریل له شدند.

سپس به مقدار ۵ میکرولیتر ،پروتئاز به لوله اضافه شده و در ۵۵ درجه سانتیگراد بمدت ۳-۱ ساعت انکوبه شدند. مراحل فوق برای هضم بافتی بوده تا باکتری داخل سلولها آزاد گردد.

برای جداسازی ژنوم باکتریهانمونه ها در دمای ۹۵ درجه سانتیگرادبمدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد تا آنزیم پروتئاز غیرفعال گردد. سپس برروی لوله ها (میکروتیوب ها) محلول لیزکننده بمقدار ٤۰۰ میکرولیترریخته شده وبمدت ۲۰-۱۵ ثانیه بهم زده شدند.

سپس به هر کدام از لوله ها محلول رسوب دهنده اضافه کرده بمدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد قرارداده شدندو بعد از این مدت سانتریفوژ گردیدند. مایع رویی دور ریخته شده وبه هر یک از لوله ها بافر شستشو اضافه کرده بهم زده شده وسانتریفوژ شدند. سپس تمامی بافرشستشو دور ریخته شده و خشک گردیده ودر مرحله آخر Solvent buffer اضافه شد. لوله ها با این محلول چند ین بار شستشو داده شدند.محلول فوق حاوی DNA باکتری بود.

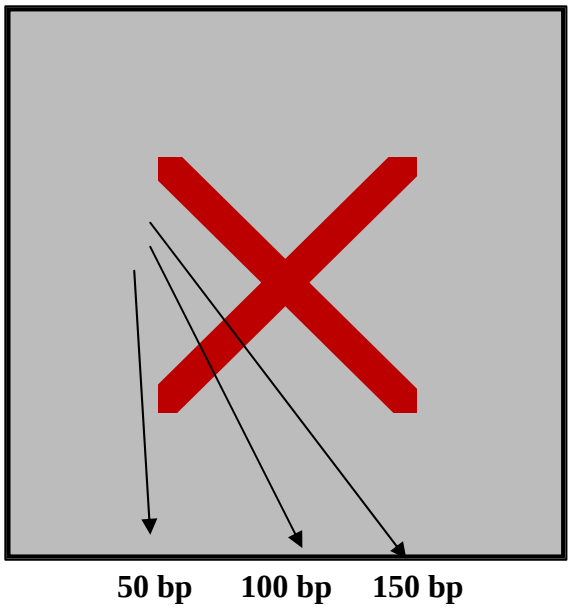
سپس DNA باکتری از نمونه های بافتی برداشته شده بوسیله روش Donoghuo و همکارانش استخراج گشته و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی LP1 و LP2 که سکانس bp ۱۲۹ را آمپلی فای می کنند تکثیر یافته که عمل آمپلی فاینگ به تعداد ٤۵-۳۵ سیکل بمدت ۳۰

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-12-26]

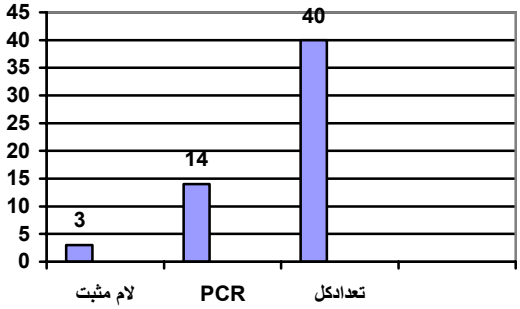
ثانیه در ۹٤ درجه سانتیگرادو ۳۰ ثانیه در ۵۸ درجه سانتیگراد و ۶۰ ثانیه در ۷۲ در جه سانتیگرادو ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگرادانجام شد و سپس Template های بدست آمده بر روی ژل آگاروز ۲/۵٪ که با بافر TBE (Trise Boric acid EDTA) تهیه شده بود با جریان الکتریسیته ۱۳۰ ولت بمدت ۱/۵ ساعت الکتروفورز شده و سپس با محلول اتید بیوم بروماید رنگ آمیزی شده و با اشعه UV بررسی و عکسبرداری شدند [۸] (شکل ۱).

یافته ها

از ٤۰ نمونه Slit Skin برداشته شده از بیماران ۳ نمونه (۷/۵ ٪) با روش لام مستقیم رنگ آمیزی شده با اسید فست مثبت بودند که هر ۳ بیمار مبتلا به فرم LL یا Lepromatous Leprosy بودندکه دونفر مرد و یک نفر زن بودند. در صورتیکه از ٤۰ نمونه بیوپسی برداشته شده تعداد ۱٤ نمونه از بیماران با روش PCR نتیجه مثبت داشتند (۳۵٪) که با توجه به رقم قبلی اختلاف معنی داری بین دو روش وجود داشت.



شکل۱. ژل آگاروز محصول PCR نمونه ها پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید



نمودار ۱. مقایسه روش لام مستقیم و PCR

بحث

در سال ۱۹۹۳ مادلین ویت[1] و همکارانش در لندن تعداد ۸۱ نمونه سواب بینی را که در کشور فیلیپین گرفته شده بودند را مورد آزمایش PCR برای تشخیص M. leprae قرار دادند. این تعدادنمونه مربوط به بیمارانی بود که ۲۰ نفر از انها تحت در مان نبوده ولی ۵ نفر در حال درمان بوده اند که تشخیص همگی آنها نوع Multibacillar یا MB بوده است. ۵۶ نمونه مربوط به کارکنان بیمارستان بوده که این کارکنان به دو گروه تقسیم شده بودند :

۱- گروهی که با بیماران جذامی در تماس بوده اند.

۲- گروهی که با بیماران در تماس مستقیم نبوده اند.

نتایج تحقیقات آنها نشان داد که ۵۵ ٪ از بیمارانی که مبتلا به فرم MB بوده و تحت درمان قرار گرفته بودند ولی با وجود درمان نتیجه PCR مثبت داشتند.

۱۹ ٪ از ۳۱ نفر افرادی که با بیماران کار می کردند ، نتیجه PCR مثبت داشتند . ۱۲ ٪ از ۲۵ نفر افرادی که در مناطق اندمیک بیماری زندگی می کرده اند ولی بظاهر سالم بوده اند نتیجه PCR مثبت داشتند. بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده افرادی که در مناطق اندمیک زندگی می کنند و با بیماران جذامی هم ، تماس ندارند می توانند ناقل بیماری باشند [٤].

یوون[2] و همکارانش درکره و فیلیپین ۱۰۲ نمونه بیوپسی را قبل از شروع درمان از بیماران جذامی

[1] Madeleine wit
[2] Yoon

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-12-26]

گرفتند. همزمان با این نمونه برداری نمونه Slit skin نیز از بیماران گرفته شده، سپس نتایج PCR نمونه های بیوپسی با نتایج لام رنگ امیزی شده با روش اسید فست مقایسه شد. ۷۳/۳ ٪ از نمونه هایی که شاخص باکتریولوژیک (BI)[1] آنها صفر بوده دارای نتیجه PCR مثبت بوده اند. ۹۶/۶٪ از نمونه هایی که شاخص باکتریولوژیک مثبت داشتند، نتیجه PCR آنها نیز مثبت بوده است[۵].

آقای وچکارن[2] و همکاران از ۵۳ بیمار در تایلند نمونه برداری Slit skin و بیوپسی کردند. از این ۵۳ بیمار ۳۱ مورد Multi bacillar یا MB و ۲۲ بیمار Pauci bacillar یا PB بوده اند که ۸۷/۱٪ از ۳۱ بیمار Multi bacillar و ٤۱/۹ ٪ نمونه های Slit skin دارای نتیجه PCR مثبت بوده اند. در حالیکه در افراد PB ۳۶/٤٪ از نمونه های بیوپسی و ۱۸/۲٪ از نمونه های Slit skin نتیجه PCR مثبت داشته اند [۶].

در سال ۲۰۰۰ شای[3] و همکاران در ایالت سیچوان[4] چین ٤۶ نمونه بیوسپی از بیماران با تشخیص اولیه ی جذام را مورد آزمایش پاتولوژیک، سرو لوژیک و PCR قرار دادند. از این ٤۶ نمونه ۲۷ مورد (۵۸/۷٪) نتیجه PCR مثبت داشتند. در حالیکه فقط ۷ مورد (۱۵/۲٪) نتیجه ی پاتولوژیک مثبت و ۱۷ مورد (۳۶/۹٪) آزمایش سرولوژیک مثبت نشان دادند. بدین ترتیب تحقیق آنها مشخص ساخت که روش PCR برای تشخیص بیماری جذام، نسبت به روش های پاتولوژیک و سرولوژیک دقیق تر وقابل اعتمادتر می باشد [۷].

در کشور همسایه ی چین که یک منطقه اندمیک برای بیماری جذام است، یعنی هندوستان که رتبه ی اول را در این بیماری دارا می باشد، جاب[5] و همکارانش در سال ۱۹۹۷ از ۳۶ نفر بیمار که مشکوک به بیماری جذام بوده اند نمونه ی بیوسپی گرفتند. نمونه های بیوسپی دوتکه شدند. یکی برای آزمایش هیستوپاتولوژیک و دیگری برای آزمایش PCR بکار برده شدند. تنها در دو مورد از نمونه هایی که بررسی هیستو پاتولوژیک شده بودند باسیل M.Lepra مشاهده شده بود در حالیکه ۱۱ مورد نتیجه ی PCR مثبت داشتند [۸].

آقای اسکولارد[6] و همکاران برای تشخیص افتراقی بیماری جذام از سایر بیماریهای مایکوباکتریال بخصوص بیماریهای پوستی از روش PCR استفاده کردند. آنها از۳۷ بیمار نمونه ی بیوسپی برداشتند. ۲۰ مورد از این نمونه ها تشخیص هیستو پاتولوژیک جذام داده شده بودند. که فقط ۱۰ مورد از آنها نتیجه ی PCR مثبت داشتند. ۱۷ مورد هم تشخیص جذام براساس لام مستقیم و نتایج هیستو پاتولوژیک داده شده بودند که PCR منفی داشتند.

یک سوم از نمونه هایی که لام مستقیم منفی و نتایج هیستو پاتولوژیک مبنی بر عدم وجود بیماری جذام را داشتند ، نتیجه ی PCR آنها مثبت بوده است. با توجه به تغییر الگوی بیماری در مناطق مختلف و همچنین اسید فست بودن سایر مایکو باکتریومها و علایم بالینی مشابه با سایر بیماریها بکار گیری روش PCR در تشخیص افتراقی، روش معقول و قابل اعتمادی بنظر می رسد [۹].

در سال ۱۹۹۲ ویلیامز[7] و همکاران تعداد ۹۲ نمونه بیوپسی از بیماران جذامی مبتلا به فرم MB را تحت آزمایش PCR قراردادند از این تعداد ۹۹٪ دارای نتیجه PCR مثبت بودند. آنها ۲۷ نمونه بیوپسی از بیماران مبتلا به فرم PB را که فقط یکی از آنها دارای لام مستقیم مثبت داشتند با روش PCR مورد آزمایش قراردادند که۷٤٪ از کل ۲۷ نمونه بیوپسی دارای نتیجه PCR مثبت بودند. هیچ یک از نمونه های کنترل و یک نمونه از بیماری که HIV مثبت و دارای Mycobacteriosis بوده نتیجه PCR مثبت نداشتند. بیماران تحت معاینه قرار گرفته و بعد از دو ماه درمان دوباره با تست PCR مورد آزمایش قرار گرفتند و

[1] Bacteriologic Index
[2] Wechkarn
[3] Shi
[4] Sichuan
[5] Job
[6] Scollard
[7] Williams

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-12-26]

معلوم شد که موارد مثبت بجز در مواردی کـه نـسبت به درمان مقاومت نشان داده بودند کاهش یافته اسـت. در واقـع آنهـا PCR را بـرای پیگیـری درمـان نیـز بکـار بردند و نتیجه گرفتند که روش PCR برای موثر بودن درمان بسیار مناسب می باشد [۱۰].

در سال ۲۰۰۱ داناگو و همکـاران تعـداد ۸ پرایمـر (LP1-LP8) را برای تـشخیص مایکوبـاکتریوم لپـر بکـار بردنـد کـه پرایمرهـای LP2, LP1سکانس 129-bp را آمپلی فای می کنند. با توجه به اینکه تعداد bp هایی کـه هدف پرایمرهای P مذکور هستند از نظر تعـداد کمتـر از bp هایی هستند که هدف پرایمرهایی از جملـه S13 S62, می باشند. لذا حساسیت پرایمرهـایی LP2 , LP1 100 برابربیـشتر از پرایمرهـای S62, S13 مـی باشـد. حتی می توانند DNA هایی را که آسیب دیده و تکه تکه شده اند را نیز تشخیص دهند. لذا با عنایـت بـه مـوارد ذکر شده پرایمرهـای LP_2 , LP_1 بـرای تـشخیص M. leprae در بیمـاران مراجعـه کننـده بـه بیمارسـتان باباباغی بکار برده شدند [۱۱].

وحیـد صـادقی و همکـاران در گـروه پژوهـشی مهندسی ژنتیک دانشگاه صنعتی مالک اشتر تهـران از ۱۵ بیمار درمان شده نمونـه بیوپـسی برداشـته و بـا روش PCR و بکارگیری پرایمرهای S62, S13 مورد آزمایش قراردادند که از این ۱۵ نمونه ۵ مورد مثبت بـوده انـد که ۲ مورد از این ۵ مـورد لام منفـی داشـته انـد. البتـه نتیجه لام مستقیم مربوط به شش مـاه قبـل از بیوپـسی بوده است [۱۲].

در تحقیق اخیر مشخص شـد کـه تفـاوت دو روش لام مستقیم و PCR بسیار چشمگیر بـوده و بـا تحقیقـات انجام شده در سایر کشورها همخوانی دارد.

نتیجه گیری

روش Slit skin smear برای تشخیص بیماری جذام روش مناسـب و دقیقـی بخـصوص بـرای فـرم TT نمی باشد.آزمایش PCR بهتـرین راه تـشخیص بیمـاری جذام و غربال کردن ناقلین می باشد.

تشکر و قدر دانی

از همکـاری صـمیمانه خـواهران روحـانی مـسیحی: خواهر فابیولا، خواهر جوزپینا، خواهر سلما، خواهر راشل و برادر روحـانی مـسیحی بـرادر اسـلیوا و خـانم سـهیلا زارعی و سایر کارکنان بیمارستان بابا باغی نهایت تـشکر و قدر دانی را از صمیم قلب دارم.

References

1- Brooks GF, Butel JS. Mycobacteria. In: Javetz, Melnik, Adelberg. Medical Microbiology, 20th ed. USA: McGraw Hill, 2001: 283-84.
2- Wolinsky E. Mycobacteria. In: Davis BD, Dulbecco R,Eisen HN, Ginsbergy SH. Microbiology, 4th ed. USA: Lippincott, 1990: 661-63.
3- Gelber RH. Rea TH. Mycobacterium leprae. In: Mandel, Douglas, Bennet: Principal and Practice of infection, 4th ed. Philadelphia, Pencylvania: Churchil Livingstone, 2000: 2608-14.
4- Madelein YL, De wit MYL, James TD, Mcfadden J, Klaster PR. Polymerase chain reaction for the detection of Mycobacterium leprae in nasal swab specimens. J. Gen. Microbiol. 1993 Mar; 31: 502-6.
5-Yoo KH, Cho SN, Lee MK, Abalos RM, Cellona RV, Fajardo TT, et al. Evaluation of polymerase chain reaction amplification of Mycobacterium leprae-specific repetitive sequence in biopsy specimens from leprosy patients. J. Clin. Microbiol. 1993 Apr; 31: 895-9.
6- Wichiwechkarn J, Karnajan S,Shuntawuttiesettec S, Sornprasit C, Kampirapakorn K. Detection of Mycobacterium leprae infection by PCR. J.Clin. Microbiol. 1995 Jan; 33: 45-9.
7- Shi L, Yajima M, Kawatsu K, Matsuoka M, Kashiwabara Y, Endoh M. Comparison of Polymerase chain reaction, immunohisto-chemistry and Conventional histopathology in the diagnosis of early leprosy in Sichuan province of China. Nihon Hansenbyo Gakkai Zasshi. 2000 Nov; 69: 147-55.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-12-26]

8- Job CK. Jayakumar J. Williams DL, Gillis TP. Role of polymerase chain reaction in the diagnosis of early leprosy. Int J Lepr Other Mycobact. Dis. 1997 Dec; 65: 461-4.
9- Scollard DM, Gillis TP, Williams DL. Polymerase Chain reaction assay for the detection and identification of Mycobacterium leprae in patients in the United states. Am. J. Clin Pathol. 1998; 109: 642-6.
10- Williams DL, Gills TP, Fillo P, Job CK, Gelber RH, Hill C, et al. Detection of Mycobacterium leprae and the potential for monitoring anti leprosy drug therapy directly from skin biopsies by PCR, Mol Cell Probes. 1992; 6: 401-10.
11- Donoghue HD, Holton J, Spigelman M. PCR primers that can detect low levels of Mycobacterium leprae DNA. J. Med. Microbiol. 2001; 50: 177-82.
۱۲- صادقی وحید، مقصودی نادر، دولتی یحیی، دلدار علی اصغر، حیدری سراج مهران، استفاده از انتی ژنهای ۱۸و۳۶ کیلو دالتونی مایکوباکتریوم لپره برای تشخیص نمونه بیماران ایرانی مبتلا به جذام با روش مولکولی PCR : فصلنامه بیماریهای پوستی، سال ۱۳۸٤، دوره ۸، شماره ۵ ، صفحات ۳۸۸ تا ۳۹۳ .

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-12-26]