پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره نوزدهم شماره ۷۱ مرداد و شهریور سال ۱۳۸۸ (۳۲-۲۷)

تعیین حساسیت و ویژگی آزمون لاتسکس آگلوتیناسیون تجربی در تشخیص لپتوسپیروز با استفاده از سویه های بومی

حمید رضا هنرمند مطهره نظافت طبالوندی ابراهیم میرزا جانی بهرام سلطانی

چکیده

سابقه و هدف : لپتوسپیروز یکی از بیماری‌های شایع مشترک بین انسان و حیوان در جهان می‌باشد که هر ساله در استان گیلان و به ویژه در شالیکاران شیوع فصلی دارد. تشخیص لپتوسپیروز با اتکا به علائم بالینی، به دلیل تشابه آن با اغلب عفونت‌های حاد مشکل است. لذا آزمون‌های سرولوژیکی در تشخیص لپتوسپیروز جایگاه مهمی دارند و میکرو آگلوتیناسیون (MAT) ، استاندارد طلایی محسوب می شود ولی چون در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی، معمول و قابل اجرا نیست، توسل به روش‌های آسان تر یک ضرورت محسوب می‌شود. لذا این مطالعه به منظور راه‌اندازی و تعیین حساسیت و ویژگی یک آزمون لاتکس آگلوتیناسیون تجربی در تشخیص لپتوسپیروز انجام گرفته است.

مواد و روش ها : تعداد ۹۸ نمونه مثبت و ۵۴ نمونه منفی که باMAT آزموده شده بودند و ۳۰ نمونه شاهد، توسط یک سوسپانسیون آنتی ژنی از نوع آنتی ژن تام، که از چهار سویه شایع بومی تهیه شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها : تعداد موارد مثبت کاذب ۱۵ عدد و موارد منفی کاذب ۱۲ عدد بوده است. مقادیرحساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی و بالاخره درستی آزمون لاتکس آگلوتیناسیون راه‌اندازی شده به ترتیب ۸۹، ۸۴/۵، ۸۶/۷، ۸۷/۲ و ۸۷ درصد بدست آمد.

استنتاج : باتوجه به حسا سیت و ویژگی نسبتا بالای این آزمون که به مطالعات قبلی انجام شده توسط محققان دیگر نزدیک است و با توجه به این نکته که انجام آن به تجهیزات آزمایشگاهی اختصاصی نیاز ندارد و در نقاط دور افتاده نیز قابل اجرا می‌باشد، لذا می‌توان آن را برای غربالگری اولیه با ارزش دانست.

واژه‌های کلیدی: لپتوسپیروز، سرولوژی، آزمون لاتکس آگلوتیناسیون

مقدمه

لپتوسپیروز یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مشترک انسان و حیوان در جهان است که در مناطق گرمسیری، نیمه‌گرمسیری و معتدله مرطوب، شیوع دارد(۱-۳). چهارپایان اهلی و وحشی و جوندگان، مخزن این بیماری هستند و باکتری را ازطریق ادرار خود دفع می‌کنند. این باکتری‌ها می‌توانند در آب و یا خاک مرطوب زنده مانده و از طریق خراش جلدی، به بدن میزبان بعدی (حیوان یا انسان) وارد گردند(۱،۴،۵،۶). لپتوسپیروز انسانی

مولف مسئول: حمیدرضا هنرمند- گیلان: دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان E-mail: honarmand_36@yahoo.com

تاریخ دریافت : ۸۸/۴/۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۸/۴/۲۱ تاریخ تصویب : ۸۸/۶/۲۵

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 23:57 +0330 on Tuesday December 11th 2018
www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 23:57 +0330 on Tuesday December 11th 2018

در ایران، در حاشیه دریای خزر، بویژه در استان گیلان و بطور عمده در کشاورزان شالیکار و معروف به تب شالیزار و در فصول گرم سال، شیوع دارد(۸،۷) و تشخیص آن از معضلات بهداشتی شایع این منطقه می‌باشد. تشخیص لپتوسپیروز با اتکا به علائم بالینی مشکل است زیرا تابلوی بالینی آن با اغلب عفونت‌های باکتریایی یا ویروسی حاد تشابه داشته (۴،۳) و بنابراین تشخیص آزمایشگاهی آن اهمیت زیادی دارد(۴). این بیماری اگر زود تشخیص داده شود براحتی مداوا می‌شود، در غیر اینصورت احتمال پیشرفت بیماری به سمت نارسایی کلیوی و حتی مرگ وجود خواهد داشت(۹). آزمون‌های سرولوژیکی برای تشخیص لپتوسپیروز جایگاه مهمی دارند(۹،۱۰،۱۱،۱۲) زیرا مشاهده مستقیم باکتری در نمونه‌های بالینی توسط میکروسکوپ زمینه تاریک بسیار مشکل است و از حساسیت و ویژگی بالایی نیز برخوردادر نمی‌باشد و جدا کردن باکتری نیز از نمونه‌های بالینی با روش کشت بسیار مشکل، وقت گیر و طولانی بوده و اغلب ناموفق می‌باشد(۴،۲). به همین دلیل آزمون میکرو آگلوتیناسیون (MAT) برای تشخیص این بیماری استاندارد طلایی محسوب می‌شود. این آزمون که یک تست سرولوژیکی است بعنوان استاندارد طلایی تشخیص لپتوسپیروز پذیرفته شده است(۱۳،۴،۳) و در تمام آزمایشگاه‌های رفرانس برای تائید تشخیص و نیز برای تشخیص نوع لپتوسپیرا استفاده می‌شود(۴) ولی انجام این آزمون به داشتن و نگهداری دائمی تعداد کافی از سویه‌های استاندارد و پاساژ دائمی آنها نیاز دارد که پر هزینه بوده و برای کارکنان آزمایشگاه خطر آفرین می‌باشد. ضمناً خواندن نتایج این آزمون به تخصص و تجربه زیاد نیاز دارد(۵،۴،۲). گرچه این روش در تمام آز مایشگاه‌های مرجع دنیا و در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی که در مورد این بیماری مطالعه می‌کنند متداول است ولی به عنوان یک آزمایش روتین برای آزمایشگاه‌های تشخیص طبی مناسب نیست(۷) و بناچار باید به روش‌های آسان‌تر و دارای حساسیت و ویژگی بالاتر از جمله الیزا، ایمونو فلوئورسانس و لاتکس آگلوتیناسیون متوسل شد(۱۱،۴).

آنتی‌بادی‌های کلاس IgM اختصاصی ضد آنتی ژن‌های سطحی لپتوسپیرا اغلب از روز ششم بیماری در خون قابل سنجش هستند(۱۴،۱۳،۱۲) ولی IgG دو هفته پس ازشروع عفونت پدیدارشده و ماه‌ها دوام می‌یابد(۱۵). آزمون لاتکس آگلوتیناسیون که می‌تواند آنتی‌بادی‌های آگلوتینه‌کننده از هر دو کلاس را بسنجد، در چندین مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفته و حساسیت و ویژگی بالایی از آن گزارش شده است(۲۰-۱۶). علیرغم معرفی شدن چندین کیت تجاری در سال‌های اخیر و ارزیابی آنها در برخی مطالعات، متاسفانه هیچکدام از آنها در کشور ما در دسترس نبوده و حتی ورود کیت‌های الیزا که بیشتر از آلمان وارد می‌شدند، از سه سال قبل ممنوع شده است و تمام مراکز تشخیصی دولتی و خصوصی استان گیلان با مشکل جدی مواجه هستند. راه‌اندازی روش‌های تشخیصی رایج و ساده از قبیل لاتکس آگلوتیناسیون، الیزا و ایمونو فلورسانس، با استفاده از سویه‌های بومی و امکانات موجود، حرکت مفیدی در راستای بر طرف کردن این مشکل بهداشتی خواهد بود.

این مطالعه به منظور راه‌اندازی و همچنین تعیین و مقایسه ارزش‌های تشخیصی (حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت، ارزش اخباری منفی و درستی) یک آزمون لاتکس آگلوتیناسیون تجربی با استفاده از آنتی ژن‌های استخراج شده از چهار سویه بومی شایع در منطقه، در تشخیص لپتوسپیروز در مقایسه با روش مرجع (MAT)، انجام گرفته است.

مواد و روش ها

در پاییز سال ۱۳۸۶ تعداد ۲۰۰ نمونه سرم متعلق به بیماران مشکوک به لپتوسپیروز، موجود در مرکز بهداشت استان گیلان، با موافقت مسئولین مربوطه، جهت انجام این مطالعه اخذ گردید. برای راه‌اندازی

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 23:57 +0330 on Tuesday December 11th 2018

تست لاتکس آگلوتیناسیون تجربی تعداد چهار سویه بومی بیماری‌زای شایع در منطقه، متعلق به سروارهای: ایکترو هموراژی، پومونا، هارجو و گریپو تیفوزا انتخاب شدند. کشت انبوه از سویه‌های مزبور در محیط کشت مایع EMJH ، که یک محیط کشت اختصاصی و غنی برای رشد دادن لپتوسپیراها است تهیه شد. پس ازکدر شدن هر محیط کشت، جمعیت باکتریایی آن توسط اسپکتروفتومتر، در طول موج ۴۵۰ نانومتر و با رجوع به منحنی استاندارد مربوطه، محاسبه شد وکشت‌های با OD بالاتر از ۰/۶، مورد استخراج آنتی‌ژن قرار گرفتند. بدین منظور، محیط کشت‌ها بصورت جداگانه به لوله‌های فالکون ۱۵ ml انتقال داده شد و با دور ۶۰۰۰ rpm، بمدت یک ساعت سانتریفیوژ شدند. مایع رویی دور ریخته شد و رسوب حاصله، با بافر فسفات نمکی دوبار شستشو شد، سپس تمام آنها به یک لوله انتقال داده شد و۵ مرتبه به وسیله روش ذوب و انجماد، یک سوسپانسیون آنتی‌ژنی یکنواخت تهیه شد که از نوع آنتی‌ژن تام[1] بوده و برای تست لاتکس آگلوتیناسیون قابل استفاده بود. برای استانداردسازی، OD آنها درطول موج ۵۵۰ نانومتر، با افزودن آب مقطر به حد ۰/۷ رسانده شد(۱۳).

برای پردازش آنتی‌ژن، جهت انجام تست لاتکس آگلوتیناسیون، مقدار معینی از سوسپانسیون آنتی ژن مخلوط مزبور را به نسبت ۱:۱۰ با سوسپانسیون ذرات خام لاتکس به ابعاد ۰/۸ میکرون اضافه نموده و بمدت ۲ ساعت روی شیکر قرار داده شد تا سطح ذرات لاتکس با ماکروملکول‌های آنتی ژنی مفروش گردند. این سوسپانسیون آنتی ژنی را با افزودن آزید سدیم (یک دهم درصد) پایدار کرده و با اضافه نمودن فنل بلو به مقدار ۰/۱ گرم در لیتر برمول، آنرا رنگی نموده و مقدار ۵۰ میکرولیتر از آن را برروی قسمت وسط یک تکه کاغذ گلاسه کلفت مربع شکل ریخته تا فیکس شود و پس از خشک شدن، دور آن فویل آلومینیومی پیچیده شد و در شرایط خشک و در دمای اتاق قرار داده می‌شد(۱۳).

ابتدا تمام نمونه سرم‌ها با انجام تست آگلوتیناسیون میکروسکوپی(MAT)[2] که آزمون استاندارد طلایی برای تشخیص لپتوسپیروز است غربالگری شده و موارد مثبت و منفی تعیین شدند. در این مطالعه از همان ۴ سویه بومی برای انجام تست MAT استفاده شد. طبق توصیه مندرج در راهنمای WHO تیترهای ۱:۴۰۰ برای یک نمونه سرم و یا افزایش تیتر ۴ برابر در دو نمونه سرم متوالی، ملاک قطعی مثبت بودن آن نمونه سرم از نظر بیماری لپتوسپیروز می‌باشد(۴). ولی سرم‌های بررسی شده در این مطالعه تمام زوج نبودند. بدین ترتیب تعداد ۹۸ سرم مثبت و ۵۲ سرم منفی انتخاب گردیدند. ضمناً ۳۰ نمونه سرم شاهد که به بیماران مبتلا به هپاتیت B، تیفوئید و بروسلوز متعلق بودند نیز به عنوان نمونه‌های شاهد مورد استفاده قرار گرفتند. برای انجام تست لاتکس آگلوتیناسیون، در مورد هر نمونه مقدار ۵۰ میکرو لیتر از سرم رقیق نشده را روی یک کارت که با روش ذکر شده آماده شده بود، ریخته شد و با یک خلال چوبی بمدت ۴ دقیقه مخلوط گردید و نتایج بصورت آگلوتیناسیون بارز (مثبت) و عدم آگلوتیناسیون (منفی) یادداشت شد. در این مورد نیز برای هر نمونه دو بار تست انجام شد. نتایج تمام آزمایشات در نرم‌افزار EXCEL,2003 ذخیره شد و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای تعیین حساسیت از فرمول تقسیم مقدار مثبت واقعی بر مجموع مقادیر منفی کاذب با مثبت واقعی ضرب در ۱۰۰ و برای تعیین ویژگی از فرمول تقسیم مقدار منفی واقعی بر مجموع مقادیر منفی کاذب با منفی واقعی ضرب در ۱۰۰ استفاده شد.

یافته ها

ازتعداد ۹۸ نمونه مثبت، تعداد ۷۱ مورد مثبت قوی، ۱۵ مورد مثبت ضعیف (در مجموع ۸۶ مورد) و تعداد ۱۲ مورد نیز منفی شدند ولی برای ۸۲ مورد منفی-

1. Whole antigen
2. Microscopic Agglutination Test

www.SID.ir
Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 23:57 +0330 on Tuesday December 11th 2018

شاهد، تعداد ۶۷ مورد منفی و ۱۵ مورد مثبت (۸ مورد مثبت قوی و ۷ مورد مثبت ضعیف) حاصل شد. با این نتایج تعداد موارد مثبت کاذب ۱۵ عدد و موارد منفی کاذب ۱۲ عدد بوده است. با توجه به نتایج حاصله و طبق فرمول‌های مربوطه، مقادیر حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی و بالاخره درستی آزمون لاتکس آگلوتیناسیون بومی، محاسبه گردید (جدول شماره ۱).

شایان ذکر است که میزان توافق یا همبستگی آزمون لاتکس آگلوتیناسیون راه‌اندازی شده با آزمون استاندارد طلائی (MAT) ۰/۷۴ بوده است.

جدول شماره ۱ : مقادیر ملاک های ارزیابی آزمون لاتکس آگلوتیناسیون راه اندازی شده در این مطالعه

ملاک ارزیابی	درصد	حدود اطمینان ۹۵ ٪
حساسیت	۸۹	٪۸۲/۲-٪۹۳/۹
ویژگی	۸۴	٪۷۶/۳-٪۹۰/۷
ارزش اخباری مثبت	۸۶/۷	٪۷۹/۵-٪۹۲/۱
ارزش اخباری منفی	۸۷/۲	٪۹۲-٪۷۹/۳
درستی(Accuracy)	۸۷	٪۸۱/۸- ٪۹۱

بحث

به دلیل فقدان علائم پاتوگونومیک و اختصاصی، تشخیص آزمایشگاهی لپتوسپیروز جایگاه مهمی دارد(۴،۳). لاتکس آگلوتیناسیون یکی از ساده‌ترین روش‌های متداول تشخیص سرولوژیکی است که برای تشخیص برخی از بیماری‌های عفونی استفاده می‌شود و در اغلب مطالعات حساسیت و ویژگی قابل توجهی از آن گزارش شده است. در سال‌های اخیر چندین کیت تجاری معرفی شده و در برخی ازآزمایشگاه‌ها مورد مصرف قرار گرفته‌اند ولی در مقایسه با MAT، حساسیت و ویژگی کمتری داشته و نتوانستند سرو وار مسوول بیماری را تشخیص دهند با اینحال از چندین مزیت دیگر برخوردار بودند که از جمله می‌توان به سهولت اجرا و قابلیت انجام در مراکز غیر مجهز، عدم لزوم کار کردن با کشت زنده باکتریایی و بالاخره سهولت خواندن نتایج اشاره کرد(۴،۱۰،۱۱،۱۳). اصولا اگر از سوسپانسیون آنتی‌ژنی استخراج شده از یک و یا ترجیحاً از چند سویه بومی و بیماری‌زای شایع در محل بجای سویه‌های استاندارد و سویه‌های غیر بیماری‌زا استفاده شود، حساسیت و ویژگی تست به مراتب افزایش می‌یابد(۴،۱۴). این نکته در مطالعات مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته، از جمله: Camargo و همکاران در مطالعه خود، تست آگلوتیناسیون ماکروسکوپی را همراه باIgM-ELISA بر روی ۱۰۸ نمونه سرم زوج بیماران مبتلا به لپتوسپیروز که مثبت بودن آنها با افزایش تیتر ۴ برابر یا بیشتر در MAT تائید شده بود و نیز برای ۲۴۵ نمونه سرم منفی و شاهد، قیاس نمودند و حساسیت و ویژگی هر دو تست را برابر و بالا (۹۹ درصد) گزارش کردند(۱۶). Smits و همکاران در مطالعه خود، تست لاتکس آگلوتیناسیون را با IgM-ELISA در مورد ۱۸۷ نمونه سرم بیماران مبتلا به لپتوسپیروز که مثبت بودن آنها در آزمون MAT تائید شده بود و نیز برای ۲۴۵ نمونه سرم منفی و شاهد بکار بردند و حساسیت، ویژگی ،ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی لاتکس اگلوتیناسیون را به ترتیب ۸۲/۳، ۹۴/۶، ۷۳/۴ و ۹۶/۷ درصد وبرای تست IgM-ELISA به‌ترتیب ۸۵/۵ ، ۹۷/۹ ، ۸۷/۶، و۹۷/۴ درصد مشخص نمودند(۱۷). Naigowit و همکاران در یک مطالعه، تست آگلوتیناسیون ماکروسکوپی را با دو تست الیزای سریع (Dipstick) و ایمونو فلورسانس غیر مستقیم (IFA) با استفاده از ۷۵ نمونه سرم مثبت و نیز ۷۵ نمونه سرم منفی مورد مقایسه قرار دادند و حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی لاتکس اگلوتیناسیون را به ترتیب ۹۴/۷ ، ۹۳/۳، ۹۳/۴ و ۹۴/۶ درصد و درستی(Accuracy) آنرا ۹۴ درصد، مثبت کاذب را ۶/۷ درصد و منفی کاذب را ۵/۳ درصد گزارش کردند(۱۸) که با مقادیر بدست آمده برای دو تست دیگر بسیار نزدیک و در مقایسه با مطالعه حاضر، بیشتر بود.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 23:57 +0330 on Tuesday December 11th 2018

Hull-Jackson و همکـاران در مطالعـه خـود یـک تـست لاتکـس آگلوتیناسـیون تجـاری را در تـشخیص لپتوسپیروز انسانی، در مورد ۴۰ نمونه سرم بیمـاران مبـتلا به لپتوسپیروز که مثبت بودن آنها در آزمون MAT تائید شده بود و نیز برای ۱۱۲ نمونه سرم منفـی و شـاهد بکـار بردنـد و حـساسیت و ویژگـی آن را ۸۵ و ۸۱ درصـد مشخص نمودند و دو باره آن را برای ۲۵ نمونـه سـرم بـا تـشخیص نهـایی لپتوسـپیروز و ۱۶۱ نمونـه سـرم بیمـاران مبـتلا بـه بیمـاری‌هـای دیگـر ارزیـابی نمـوده و ایـن بـار حـساسیت را ۸۸ و ویژگـی را ۹۸ درصـد بدسـت آوردنـد(۱۹). Pradutkanchana و همکـاران در مطالعـه خود تست آگلوتیناسیون ماکروسکوپی را در تـشخیص لپتوسپیروز انسانی با آزمودن آن بر روی نمونه سرم‌هـای جفت مربوط به ۸۵ بیمار، که مثبت بودن آنها با افـزایش تیتـر ۴ برابـر یـا بیـشتر در MAT تائیـد شـده بـود مـورد ارزیابی قرار دادند و از ۱۰۰ نمونه سرم افراد سالم و ۱۰۲ نمونه سرم مربـوط بـه بیمـاری‌هـای دیگـر بعنـوان شـاهد اسـتفاده نمودنـد و حـساسیت، ویژگـی، درصـد مثبـت کاذب، درصد منفی کاذب، ارزش اخباری مثبت، ارزش اخباری منفی و درستی تست لاتکس آگلوتیناسیون را به ترتیـب ۹۴/۱ ، ۹۷ ، ۳ ، ۵/۹ ، ۹۳ ، ۹۷/۵ و ۹۶/۲ درصـد بدست آوردند که از اعداد مشابه مطالعه ما کمـی بـالاتر می‌باشد(۲۰). در مطالعه ما از سرم‌هـای مربـوط بـه اواخـر هفته اول و هفته دوم بیماری و از آنتی ژن‌های اسـتخراج شده از ۴ سویه بومی استفاده شد و مـلاک‌هـای ارزیـابی در آن با بیشتر مطالعات بیان شده شباهت نزدیک داشت. تفاوت مهـم آزمـون راه‌انـدازی شـده در ایـن مطالعـه بـا کیـت‌هـای تجـاری خـارجی، اسـتفاده از سوسپانـسیون آنتی‌ژنی استخراج شده از چند سویه بومی و بیماری‌زای به جای استفاده از یک سـویه اسـتاندارد غیـر بیمـاری‌زا، است تا حساسیت و ویژگـی آزمـون افـزایش یابـد ولـی نتایج این مطالعه این فرضـیه را تائیـد ننمـود. در مجمـوع نتایج حاصله از این مطالعه و مطالعات مشابه معرفی شـده نـشان مـی‌دهنـد کـه تـست لاتکـس آگلوتینـا سـیون در تشخیص لپتوسپیروز انـسانی محاسـن و معـایبی دارد، از جمله: این تـست آنتـی‌بـادی‌هـای IgM و IgG را بـا هـم می‌سنجد و نمی‌تواند موارد بیماری را با مواجهـات قبلـی تفکیک دهد ولی انجـام آن بـه تجهیـزات آزمایـشگاهی اختـصاصی نیـاز نـدارد و در مراکـز فاقـد امکانـات آزمایشگاهی مجهز و در نقاط دور افتاده نیـز قابـل اجـرا می‌باشد، ولی در خواندن نتایج آن ذهنیت دخالت داشته و قابلیت سنجش آنتی‌بـادی‌هـا در آن بـا گذشـت زمـان کاهش چشمگیر می‌یابد. بنابراین با توجه به حسا سیت و ویژگی نسبتا بالای این تست که با مطالعات قبلـی انجـام شده توسط محققان دیگر نزدیک است و باتوجـه بـه ایـن نکته که انجام آن به تجهیزات آزمایـشگاهی اختـصاصی نیاز ندارد و در مراکز فاقدامکانات آزمایشگاهی مجهز و در نقاط دور افتاده نیز قابل اجرا می‌باشـد، لـذا مـی‌تـوان تست لاتکس آگلوتیناسیون را برای غربـالگری اولیـه بـا ارزش دانست.

References

1. Vinetz JM. Leptospirosis. Tropical & Travel Associated Disease 2001; 14: 527-538.
2. Plank R, Dean D. Overview of the Epidemiology, Microbiology and Pathogenesis of Leptospira Spp in humans. Microbes Infection 2000; 2: 1265-1276.
3. Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Review 2000; 14(2): 296-326.
4. WHO last Guidance for Diagnosis, Surveilance and Control of Human Leptospirosis. Geneva: World Health Organization; 2003. P 5-28.
5. Vinetz J M. Leptospirosis. Curr Opin Infect Disease 1997; 10: 357-361.
6. Van Creel R, Speelman P, Gravekamp C, Terpestra WJ. Leptospirosis in Travelers. Clin Infec Dise 1994; 19: 132-134.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 23:57 +0330 on Tuesday December 11th 2018

7. Honarmand H, Mansour Ghanaei F. Leptospirosis in Guilan province. Ilia publisher, Iran; 2005. (Persian).
8. Honarmand H, Eshraghi S, khormizadeh MR, Hareskeerl RA, Ghanati FM, Abdolahpour MR, et al. Distribution of human leptospirosis in Guilan province, Northern Iran. J Pub Heal 2007; 36(1): 68-73.
9. Dupont H, Dupont perdrizert D, Perie JL, Zehner-Hansen S, Jarrige B, Daijardin JB, et al. Leptospirosis: Prognosis Factors Associated with Mortality. Clin Infec Dise 1997; 25: 270-274.
10. Terpstra WJ, Lighthare GS, Schoone GJ. ELISA for detection of specific IgM and IgG in human Leptospirosis. J General Microbiol 1985; 131: 377-385.
11. Adler B, Murphy AM, Locamini SA, Fain S. Detection of Specific anti-Leptospira Immunoglobulins M and G in human serum by solid phase enzym linked immunosorbant assay. J Clinl Microbiol 1980; 11: 452-457.
12. Adler B, Faine S. Antibody response in human leptospirosis Nat Symp Leptospira, Leptospirosis and other Spirochaeta. Abstract book of National Symposium Leptospira, Leptospirosis and other Spirochaeta, Bucharest. 1975. 271-276.
13. Hartskeerl RA, Smits H, Korver H, Terpestra WJ, Goris MG, smith H, et al. Manual for diagnosis of leptospirosis. KIT Biomedical Research, Netherland; 2004: 61-4.
14. Ryu E. Rapid agglutination test for leptospira without non-specific reaction. Bull Int Epiz 1970; 73(1-2): 49-58.
15. Jeandel P. Late positive blood cultures in leptospirosis. Trans Res Soc Trop Hyg 1984; 78: 143-145.
16. Camargo ED, Angela PB, Emilson DS, Marcos VS, Rui VA. Macroscopic Agglutination Test for rapid diagnosis of human leptospirosis. J Clin Microbiol 1998; 36: 3138-3142.
17. Smith H, Menno AWG, Hoorn V, Goris MG, Gussenhoven GC, Yersin C. Simple Latex Agglutination assay for rapid serodiagnosis of human leptospirosis. J Clin Microbiol 2000; 38: 1722-1725.
18. Naigowit P, Luepaktra O, Yasang S, Biklang M, Warachit P. Development of a screening method for serodiagnosis of leptospirosis. Intern Med J Thai 2001; 17(3): 182-186.
19. Hull-Jackson C, Glass MB, Ari MD, Bragg SL, Branch CU, Whittington CN. Evaluation of a commercial latex agglutination assay for serological diagnosis of leptospirosis. J Clin Microbiol 2001; 44(5): 1853-1855.
20. Pradutkanchana S, Nakarin J. The use of latex agglutination for the diagnosis of acute human leptospirosis. J Med Assoc Thai 2005; 88(10): 13495-13499.

Archive of SID

www.SID.ir