

۹۹۴۷۱



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده پزشکی مهندس افضلی پور

پایان نامه:

برای دریافت درجه دکترای تخصصی آسیب‌شناسی بالینی و جراحی

عنوان:

بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک و ایمونوهیستوشیمی لیشمانیوز
جلدی قبل و طی درمان، در سه گروه درمانی ایمیکونیمد موضعی، مگلامین
آنتی‌موآن تزریقی (IL) و رژیم ترکیبی آنها

اساتید راهنما:

جناب آقای دکتر شهریار دیبیری
سرکار خانم دکتر سیمین شمسی میمندی
سرکار خانم دکتر منظومه شمسی میمندی

۱۳۸۷ / ۹ / ۱۱

پژوهش و نگارش:

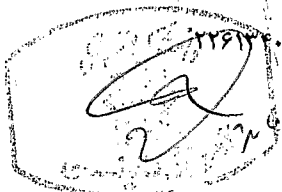
دکتر عبدالرضا جوادی

سرمدی

این پایان نامه در تاریخ ۱۵، ۱۲، ۸۶ با حضور
رئیس هیئت داوران و هیئت داوران و با نمره
۲۰ مورد تأیید قرار گرفته است

زمستان ۱۳۸۶

تایپ و تکثیر دانا رایانه - تلفن: ۲۲۶۱۳۰



۹۹۶۶۱

تقدیم به:

مادر عزیزم

"دکتر بدری توکل‌یان"

با تشکر و تقدیر از:

اساتید گرامی

جناب آقای دکتر شهریار دبیری

سرکار خانم دکتر سیمین شمسی میمندی

سرکار خانم دکتر منظومه شمسی میمندی

با سپاس فراوان از:

اساتید بزرگوار

جناب آقای دکتر مهرداد ناجی،

سرکار خانم دکتر پروین گنجه‌ای آذر

از بخش پاتولوژی دانشگاه میامی فلوریدا

که در خصوص تکنیک ایمونوهیستوشیمی، صمیمانه

ما را یاری فرمودند.

با تشکر از:

مرکز تحقیقات لیشمانیای

دانشکده پزشکی افضلی پور کرمان

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
چکیده انگلیسی	I
فصل اول: مقدمه و بیان مسأله	
مقدمه و بیان مسأله	۲
تاریخچه	۳
اتیولوژی لیشمانیازیس پوستی	۴
اپیدمیولوژی و تقسیم‌بندی لیشمانیاز پوستی	۵
علائم بالینی لیشمانیاز پوستی دنیای قدیم	۷
اپیدمیولوژی CL در استان کرمان	۸
روش‌های تشخیص لیشمانیاز پوستی	۹
پاتولوژی لیشمانیازیس پوستی	۱۰
ایمونولوژی لیشمانیاز پوستی	۱۳
نوآوری و روش‌های درمانی لیشمانیاز پوستی	۱۷
فصل دوم: سابقه و موضوع تحقیق	
سابقه و موضوع تحقیق	۲۳
فصل سوم: روش تحقیق	
اهداف کلی	۲۹
اهداف فرعی	۲۹
روش تحقیق	۳۰
فصل چهارم: نتایج	
شرح توصیفی بیماران	۳۸

صفحه	عنوان
۳۹	یافته‌های بالینی
۴۰	روش گردآوری داده‌ها
۴۰	یافته‌های رنگ‌آمیزی H&E
۴۲	یافته‌های شمارش افتراقی سلول‌های التهابی در برش H&E
۴۹	یافته‌های ایمونوهیستوشیمی

فصل پنجم: بحث و نتیجه‌گیری

۵۶	بحث و نتیجه‌گیری
۵۶	گلوکانتیم
۵۸	ایمیکوئیمد

فصل ششم: منابع

۶۲	منابع
----	-------

ضمائم

۶۸	جداول و تصاویر ضمیمه
----	----------------------

Abstract

Background: Combination therapy with imiquimod as immunomodulator and meglamine antimoniate has been reported to be suitable for treatment of cutaneous leishmaniasis. Efficacy of the treatment on histological levels and immune cells responses during this regimen have not been established yet.

Objective: Comparative histological and immunohistochemical changes of cutaneous leishmaniasis under therapy with meglamine antimoniate, imiquimod and combination of both therapy.

Material and methods: Double blind clinical – pathologic trial of 15 patients with newly diagnosed old world cutaneous Leishmaniasis in Kerman, Iran were included in this study. They randomly assigned for 3 different treatment groups. 4 patients treated by combination of imiquimod 5% cream topical and intralesional meglamine antimoniate with standard dose for 4 weeks. Monotherapy with Imiquimod was applied for 7 patient and 4 patients were treated for meglamine antimoniate (IL). Histological confirmation was performed before and during therapy. Semi-quantitative histological parameters, numbers of mixed inflammatory cells (cells/1 mm²) and percentages of Langerhans cells (CD1a +), T-cells (CD3 +), B-cells (CD20+) and macrophages (CD68+) by immunohistochemical method in dermis and adjacent epidermis were estimated and calculated. For this purpose morphologic and micrometric examination on H&E and IHC sections were studied using micrometer.

Results: Imiquimod significantly decreased mean of histiocytes aggregation size (P=0.041). Meglamine antimoniate reduced parasite load and infected epithelioid histiocytes in dermis (P=0.05). Glucantime therapy decreased epidermal CD3+ lymphocytes but increased them in dermis and histiocytic granuloma (P=0.07). During topical application of imiquimod a depletion of CD1a+ dendritic cells in epidermis (P=0.021) and slight predominance of dendritic cells in dermis were observed. Combined therapy and imiquimod monotherapy decreased CD68+ macrophages in dermis (P=0.01).

Conclusion: Improvement and cure in cutaneous leishmaniasis depends on decreasing of parasite load and infected macrophages. For this purpose therapeutic drugs should have parasitocidal effects along with immunomodulation. Combination therapy helps the clinicians for this purpose. Meglamine antimoniate which decreased parasite load and exhibits considerable effects on up-regulation of T-cells demonstrates that pentavalents compounds as parasitocidal and immunomodulator effect are the first lines of treatment. Imiquimod an immunomodulator accentuates host immune response and reduces granuloma size is an effective immunomodifier for combination therapy. Monotherapy of imiquimod is less effective than two other regimens in reduction of parasite load, inflammation and congestion at inoculated site.

فصل اول

مقدمه و بیان مسأله

مقدمه و بیان مسأله

لیشمانیوز یک بیماری عفونی بعلت تکثیر یک انگل تک یاخته در بافت‌های مختلف بوده که هنوز هم به صورت یک مشکل بهداشتی در جوامع در حال توسعه مطرح است. انگل توسط پشه حاکی منتقل شده سه شکل عمده بالینی شامل پوستی، پوستی- مخاطی و احشایی دارد. ضایعات نوع پوستی (Cutaneous leishmaniasis) به صورت پاپول بوده که تبدیل به زخم می‌شوند، ضایعات ماه‌ها و سال‌ها می‌مانند و دچار عوارضی مثل عفونت باکتریال و اسکار شدید می‌گردند [۶۷].

لیشمانیوز پوستی (CL) بعد از مالاریا شایع‌ترین بیماری منتقل شده انگلی توسط حشرات است نوع دنیای قدیم لیشمانیوز پوستی که در ایران بنام سالک شناخته می‌شود توسط گونه‌ها *L. major* و *L. tropica* ایجاد می‌گردد و در خاورمیانه، هند و آفریقا اندمیک می‌باشد [۵۹] در ایران نیز پنجمین کانون عمده لیشمانیوز پوستی استان کرمان است که بیشتر از نوع *L. tropica* می‌باشد [۳۹، ۳۸، ۵۸ و ۵۷].

از لحاظ درمان، درمان‌های مختلفی از دیرباز برای آن بکار رفته ولی هنوز درمان قاطع و مؤثری جهت بیماری وجود ندارد [۵۸].

به طور کلی چهار گروه درمان جهت لیشمانیوز جلدی داریم که شامل داروهای تزریقی و سیستمیک (مگلامین آنتی‌موان و استیوگلوکونات)، داروهای موضعی (مثل کرم ایموکوئید و پاروموایسین)، داروهای خوراکی (فلوکونازول، روی، آزیترومایسین و) و نیز روش‌های فیزیکی (مثل کرایوتراپی، لیزر CO_2 ، گرمای موضعی با امواج رادیویی و فتودینامیک تراپی) می‌باشند [۳۳]. مگلامین آنتی‌موان (گلوکانتیم) یک داروی آنتی‌موان شناخته شده با تاریخچه طولانی بوده که سال‌ها به طور مؤثری در درمان لیشمانیوز بکار رفته است. در سال‌های اخیر رژیم‌های درمانی ترکیبی این دارو برای لیشمانیوز جلدی دنیا جدید با عوامل موضعی مثل ایمیکوئید بکار رفته است [۳۳، ۱۱ و ۱۰].

ایمیکوئید (آلدارا) که کرم موضعی آن توسط FDA تأیید شده است، دارویی است که با آزاد کردن اکسیدنیترو (NO) توان فعال کردن ماکروفاژها و کشتن نوع آماستیگوت لیشمانیا را دارد [۸ و ۹].

ایمیکوئید به صورت درمان ترکیبی با گلوکانتیم به طور موفقیت آمیزی جهت درمان لیشمانیای پوستی مقاوم به درمان به عنوان یک داروی تنظیم کننده سیستم ایمنی (Immunomodulator) بکار رفته است [۲۰، ۱۰ و ۱۱].

ولی تا کنون مطالعات کافی هیستوپاتولوژیک و ارزیابی جمعیت و عملکرد سلول‌های دفاعی میزبان قبل و بعد از درمان ترکیبی با گلوکانتیم - ایمیکوئید انجام نشده است. مسئله بسیار مهم دیگر اینکه هنوز بعد از گذشت بیش از یک قرن از پیدا کردن عامل بیماری و توصیف آن توسط Borovsky در سال ۱۸۹۸، معیارهای هیستوپاتولوژیک قاطعی جهت تشخیص و ارزیابی پاسخ به درمان در CL توسط درماتوپاتولوژیست‌ها ارائه نشده است. تحقیقی که پیش رو دارید با بررسی متغیرهای متنوع هیستوپاتولوژیک (حدود ۱۹ متغیر هیستولوژیک) بررسی جمعیت‌های سلول‌های التهابی حاد و مزمن به صورت مرفومتريک و توپوگرافی سلول‌های ایمنی در بیوپسی‌های قبل و طی درمان به ارزیابی درمان‌های ترکیبی، غیر ترکیبی با ایمیکوئید در سطح هیستولوژیک و ایمونولوژیک می‌پردازد. از لحاظ کاربردی با اثبات مؤثر بودن درمان‌های ترکیبی گامی بلند به سوی روش درمانی قطعی CL بر خواهیم داشت. از لحاظ جنبه‌های بنیادی این تحقیق بعلاوه تنوع پارامترهای بافت شناسی در ارائه ضابطه هیستولوژیک پاسخ به درمان می‌تواند مورد استفاده محققین قرار گیرد.

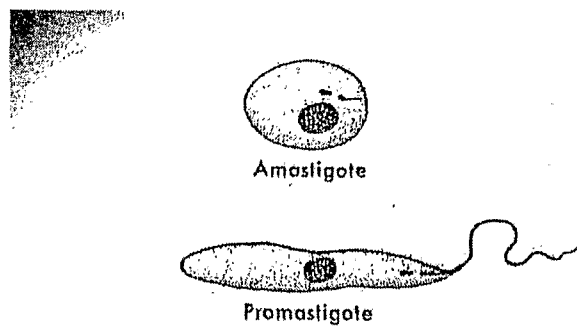
تاریخچه

در سال ۱۸۸۵ Cuningham به وجود تک یاخته در زخم لیشمانیوز جلدی پی برد. در سال ۱۹۰۰ لیشمان در طحال سربازی که از تب دام در هندوستان مرده بود اجسام بیضی شکل را در درون سلول‌های بزرگ مشاهده کرد.

در سال ۱۹۰۳ Ross انگل شناس انگلیسی جنس لیشمانیا را در انگل شناسی نام گذاری کرد.
 در سال ۱۹۰۴ مارزینوفسکی در زخم پسر بچه‌ای که از ایران به روسیه رفته بود انگل را
 مشاهده و آن را *Oraplasma Oriental* نامید.
 اولین بار شرح علمی لیشمانیوز جلدی در ایران توسط دکتر گلهوی فرانسوی در ۱۸۸۳ نوشته
 شده است [۶۰].

اتیولوژی لیشمانیازیس پوستی (CL) و چرخه زندگی انگل

لیشمانیازیس بیماری سیستم رتیکولو اندوتلیال بوده که ناشی از تکثیر یک تک یاخته از جنس
 (Genus) لیشمانیا در داخل سلول ماکروفاژ ایجاد می‌شود تمام گونه‌هایی که انسان را آلوده
 می‌کنند مخزن حیوانی داشته و (البته *L. tropica* مخزن انسانی هم دارد) و توسط پشه خاکی متعلق
 به جنس فلبوتوموس (*Phlebotomus*) در دنیای قدیم و لوتزومیا (*Lutzomyia*) در دنیای جدید
 منتقل می‌شوند انگل در میزبان مهره‌دار به شکل آماستیگوت (*Amastigote*) و در ناقل حشره
 بشکل پروماستیگوت (*Promastigote*) می‌باشد [۴]



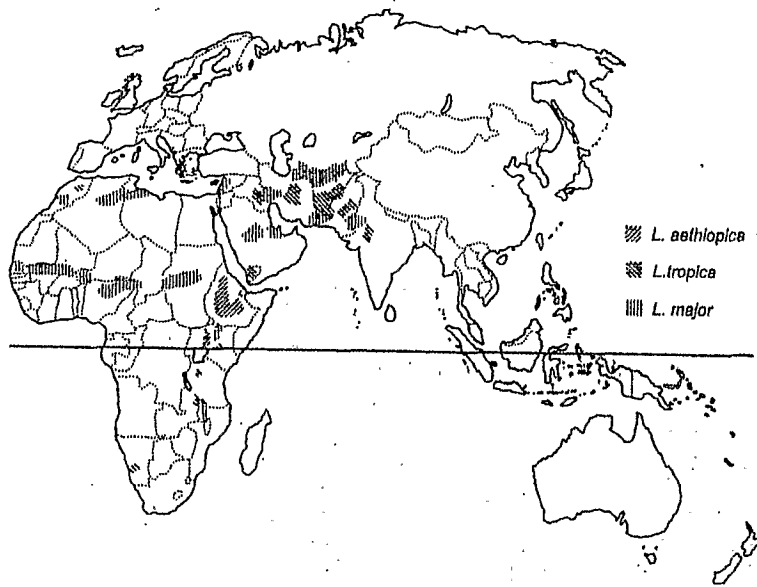
شکل ۱- مراحل انگل در انسان و میزبان حشره [۱]

L.infantum و بندرت L.aethiopica ، L.tropica ، L.major عامل لیشمانیاز پوستی جهان قدیم می‌باشند علائم به صورت ندول و زخم پوستی بوده که بر حسب منطقه جغرافیایی بنام‌های زخم شرقی، کورک بغدادی، کورک دهلی، دکمه بیسکرا (Biskra button) و Aleppoevil نامیده می‌شود اولین بار خصوصیات این بیماری پوستی توسط Borovky در سال ۱۸۹۸ در یک ژورنال پزشکی بنام Military. Medical.J شرح داده شده است. چرخه زندگی انگل شامل دو مرحله آماسیتوگوت و پروستیتوگوت بوده که در مرحله آماسیتوگوت انگل کوچک (۳-۵ میکرون) مدور بدون حرکت و داخل سلولی است در حالی که در مرحله پروماستیتوگوت کشیده (ابعاد ۳/۵-۱/۵ در ۲۰-۱۵ میکرون با یک تاژک آزاد ۲۸-۱۵ میکرونی) و خارج سلولی است. بعد از تلقیح ارگانیزم توسط پشه خاکی، ارگانیزم توسط سلول‌های رتیکولاندوتلیال (R.E.cells) میزبان مهره‌دار بلع شده و در مدت ۲۴-۱۲ ساعت بشکل آماسیتوگوت (Donovan Leishman body) در می‌آید. هسته بزرگ و کیتوپلاست کوچک در رنگ‌آمیزی گیمسای بافتی دیده می‌شود آن‌ها به روشی تقسیم دوتایی در لیزوزم‌های مارکروفازها تکثیر می‌شوند سپس سلول میزبان را منهدم کرده و دوباره توسط مارکروفازها بلع می‌شوند در لیشمانیازیس پوستی (CL) فرم آماسیتوگوت محدود به پوست بوده، باعث زخم و پاپول پوستی می‌شود در صورت گزش مجدد پشه خاکی از ضایعات جلدی فرم آماسیتوگوت آن دوباره توسط پشه بلع و تبدیل به پروماستیتوگوت می‌شود و چرخه مجدداً شروع می‌شود [۱].

اپیدمیولوژی و تقسیم‌بندی لیشمانیازیس پوستی (CL)

سازمان (WHO) بروز لیشمانیازیس پوستی را در ۸۸ کشور جهان به میزان ۱/۵ میلیون مورد در هر سال تخمین می‌زند این آمار اشاره می‌کند که تقریباً ۳۵۰ میلیون نفر در معرض ابتلا به لیشمانیازیس هستند و ۱۲ میلیون نفر در جهان آلوده به این انگل می‌باشند لیشمانیوز شامل گروهی از سندرم‌های بالینی است که بر حسب گونه‌های مختلف ارگانیزم طیف وسیعی از بیماری

را شامل می‌شود طیف این سندرم‌ها از ضایعات پوستی خود بخود محدود شونده تا عفونت‌های پوستی مخاطی، انواع تحت بالینی و منتشر احشایی تا عفونت‌های مرگبار احشایی متغیر می‌باشد [۱].



شکل ۲- توزیع جغرافیایی عوامل لیشمانیای پوستی جهان قدیم [۱]

بر اساس تقسیم‌بندی ساده بیماری شامل انواع لیشمانیازیس پوستی (دنیای قدیم، جدید)، پوستی-مخاطی و احشایی می‌باشد [۴ و ۱].

لیشمانیازیس پوستی جهان قدیم (Oriental sore) در اروپای شرقی، آفریقای شرقی، خاورمیانه، ایران، افغانستان، هند و جنوب روسیه دیده می‌شود عفونت توسط *L. Ethopica*، *L. major*، *L. tropica* ایجاد می‌گردد.

جدول ۱- لیشمانیای جهان قدیم و انواع آن [۱]

Species and sand fly vector	Human disease and lesion	Geographic distribution	Important hosts	Comments
<i>L. major</i> : <i>Phlebotomus papatasi</i> , <i>P. duboscqi</i> , <i>P. salebi</i>	Cutaneous leishmaniasis (Oriental sore; rural, zoonotic); lesions may number >100; wet lesion with crusting; necrotic and exudative	North Africa, sub-Saharan Africa, Central and West Asia	Great gerbil (<i>Rhombomys opimus</i>), fat sand rat (<i>Psammomys obesus</i>)	Primarily an infection of desert rodents; gerbil infection rate may reach 30%; village inhabitants near gerbil burrows may have infection prevalence rates of 100%; major problem for rural settlers in Israel, military personnel in the Sinai Desert, Israel, Iraq, and Iran
<i>L. tropica</i> : <i>Phlebotomus sergenti</i> , <i>P. papatasi</i> , <i>P. chaudi</i>	Cutaneous leishmaniasis (Oriental sore; urban, anthroponotic); lesions usually ~2; lesions more swollen, less necrotic; less exudate than with <i>L. major</i> ; leishmaniasis recidivans also seen (chronic lesions on face or other exposed areas, persist for years)	Middle East, Mediterranean littoral, India, Pakistan, Central Asia, Iran, Iraq	Dogs and humans	Major epidemic of anthroponotic CL has occurred in war-ravaged Kabul, Afghanistan, with thousands of cases identified; responsible for viscerotropic syndrome in a small group of American military personnel infected in the Persian Gulf War; extensive scarring can lead to disfigurement; can last for up to 40 years
<i>L. aethiopica</i> : <i>Phlebotomus longipes</i> , <i>P. pedifer</i>	Cutaneous leishmaniasis, diffuse cutaneous leishmaniasis; lesions more swollen, less necrotic; barely exudative	Ethiopia, Kenya, bordering countries	Rock hyraxes (<i>Heterohyrax brucei</i> , <i>Procavia</i> spp.)	Human disease usually self-healing, small number develop nonhealing disseminated CL

L. Amazonensis ، L. Braziliensis ، L. Mexicana و ایجاد می‌گردد نوع مکزیکانا باعث درگیری لبول گوش می‌شود انواع مکزیکانا و آمازونسیس ضایعات پوستی منتشر ایجاد می‌کنند. حتی در یک ناحیه از جنوب ایالت تگزاس آمریکا لیشمانیاز پوستی نیز گزارش شده است [۴].

علائم بالینی لیشمانیاز پوستی دنیای قدیم

دوره پنهان بیماری ۲ تا ۸ هفته بوده ولی گاهی تا سالها دوره نهفته طول می‌کشد. اولین علامت آن ضایعات به صورت پاپول سفت بی درد در محل گزش می‌باشد ضایعه اولیه به صورت پلاک مسطح در آمده و با پوسته‌های نرم و ریز پوشیده می‌شود بعد از آن ضایعه و جذب شده و زخمی می‌شود نهایتاً زخم با آگزودا پوشیده شده و لبه‌های آن بر جسته می‌گردد [۱].

انواع بالینی لیشمانیای پوستی دنیای قدیم شامل (۱) نوع روستایی (L.major) (۲) نوع شهری (L.tropica) (۳) نوع Recidivans (L.tropica) (۴) لیشمانیای پوستی L.aethiopica (۵) لیشمانیاز پوستی منتشر L.aethiopica می‌باشند [۱].

که به شرح دو نوع شایع‌تر آن یعنی نوع روستایی و نوع شهری می‌پردازیم.

نوع روستایی (Rural disease)

عامل نوع روستایی گونه L.major می‌باشد ضایعات متعدد همراه دلمه و التهاب است مرکز ضایعه نکروتیک و پوشیده با آگزوداست. در عرض چند ماه بهبود می‌یابد انتشار لنفاوی و لنف آدنوپاتی در این نوع دیده می‌شوند اگر ضایعه دردست باشد شبیه اسپروتريکوزیس می‌شود گاهی ضایعه آن اسکار شدیدی می‌گذارد. از آگوست ۲۰۰۲ تا فوریه ۲۰۰۴، ۵۰۰۰ مورد از CL در پرسنل ارتش آمریکا در افغانستان، عراق و کویت گزارش شده است که عامل عمده آن‌ها در عراق نوع L.major می‌باشد و با روش الکتروفورزیس ایزوآنزیم از کشت انگل تأیید شده است (CDC, 2004) بر اساس اطلاعات Campbell تقریباً ۱٪ سربازان که از عراق به می‌گردند CL دارند که با PCR تأیید شده است [۱].

نوع شهری (Urban disease)

ضایعات نوع شهری منفرد بوده به آرامی گسترش می‌یابد و زمان بهبود آن گاه بیش از ۱ سال طول می‌کشد. ضایعات آن کمتر دچار التهاب و نکروز و دلمه می‌شود. عامل نوع شهری L.tropica می‌باشد [۱].

اپیدمیولوژی CL در استان کرمان

پنجمین کانون عمده لیشمانیوز پوستی کرمان است. لیشمانیاز در این منطقه هم به صورت فعال و هم به صورت اسکار در افراد مشاهده می‌شود. نوع بیماری در استان کرمان به دو صورت شهری و روستایی می‌باشد. لیشمانیازیس در خود شهر کرمان از نوع خشک بوده و مخزن آن

انسان و سگ است (*L.tropica*). نوع روستایی یا مرطوب در مناطق دیگر استان مشاهده می‌شود مخزن نوع مرطوب آن ژربیل‌ها می‌باشند و مطالعات انجام شده بر روی ناقلین وجود فلبوتوموس پاپاتاسی، سرژانتی و کوکازیکوس را به اثبات رسانده است [۶۰].

در جامع‌ترین تحقیق انجام گرفته شده در استان در فاصله سال‌های ۱۹۹۴ تا ۱۹۹۷ توسط دکتر شریفی، دانشگاه تهران و WHO در شهر بم از ۹۰ بیماری که مورد آزمایش IFAT و کشت قرار گرفتند ۸۲ مورد (91%) *L.tropica* و ۸ مورد ($9/17\%$) *L.major* بودند. تعداد ۹ بیمار هم مورد آزمایش ایزوآنزیم و ۱۰ بیمار مورد آزمایش PCR قرار گرفتند که عمدتاً *L.tropica* بودند. بر اساس این مطالعات به این نتیجه رسیدند که CL در شهر بم عمدتاً آنتروپوفیلیک می‌باشد [۳۹]. لیشمانیاز پوستی آنتروپوفیلیک (ACL) به علت *L.tropica* بوده و در بسیاری از شهرهای بزرگ و کوچک ایران از قبیل شیراز در جنوب، بم و کرمان در جنوب شرق و مشهد در شمال شرق آندمیک می‌باشد [۲۸ و ۵۷].

۱۵ بیمار بررسی شده در تحقیق ما که مربوط به شهر بم و کرمان هستند از لحاظ بالینی و اپیدمیولوژی *L.tropica* می‌باشند.

روش‌های تشخیص لیشمانیاز پوستی [۴]

تشخیص با دیدن فرم آماستیگوت در گسترش‌ها، نقوش Imprints، بیوپسی‌ها و یا فرم پروماستیگوت در محیط کشت ثابت می‌شود در لیشمانیازیس و موارد مشکوک آن از حاشیه ضایعه فعال باید بیوپسی تهیه شود و از بیوپسی می‌توان touch Imprint گرفت.

گرفتن اسمیر با ایجاد برش ۲-۳ میلی‌متری در حاشیه ضایعه زخمی و برداشت مقدار کمی از بافت از سطح برش بوسیله لنست (Lancet) می‌باشد اسمیرها، Imprintها را باید گیمسا رنگ کرد. کشت حساس‌تر بوده و امکان شناسایی گونه‌ها و زیرگونه‌ها را فراهم می‌کند. نمونه‌های

آسپیره شده و بیوپسی‌ها روی محیط NNN یا در محیط اشنايدر با مکمل سرم جنین گوساله تلقیح می‌شدند.

در اسمیرها Imprint ها و مقاطع بافتی آماستیگوت به اندازه ۴-۲ میکرون با وجود کیتوپلاست مشخص می‌گردد. در برش‌های بافتی مخاط در اثر مچاله شدن حین فیکساسیون، ارگانیزم کوچک‌تر به نظر می‌رسد. گاهی فرم آماستیگوت با سلول‌های مخمر، هیستوپلاسم کپسولاتوم و ترفوزوئیت‌های T.gondii اشتباه می‌شود. لیشمانیاها کیتو پلاست داشته دیواره سلولی cell wall ندارد. [۴].

بر اساس یک مطالعه حساسیت تشخیصی مقاطع بافتی رنگ شده با H & E درصد ایمپرنیت‌ها ۱۹٪، کشت ۵۸٪ و روش‌ها ترکیبی ۶۷٪ است. سایر روش‌های تشخیصی شامل تلقیح روی حیوان آزمایشگاهی (hamster)، روش‌های PCR جهت تعیین گونه‌ها و ارزیابی پاسخ به درمان، تست‌های سریع ایمونوکروماتوگرافی (Rk39/Strip test) جهت تعیین سریع ایمونوگلوبولین‌های ضد لیشمانیا، Formol-gel test، تست پوستی مونتنگرو (Leishmania skin test) و تست‌های سرولوژی با حساسیت‌هایی مثل DAT (Direct agglutination test)، DIF، Elisa، می‌شوند [۱۱].

پاتولوژی لیشمانیازیس پوستی

تغییرات هیستوپاتولوژی ضایعات حاد و لوکالیزه پوستی در درمیس شامل انفیلترای متراکم و گسترده هیستوسیت‌ها مخلوط با لنفوسیت‌ها و تعدادی پلاسماسل می‌باشد. ائوزینوفیل و نوتروفیل کمتر دیده می‌شود اگر ضایع اولسره شود نوتروفیل بیشتر دیده می‌شود. سیتوپلاسم هیستوسیت‌ها با تعداد زیادی اجسام لیژمن پر شده است. اجسام لیژمن داخل سلول با رنگ گیسما به رنگ آبی تیره می‌شوند ولی با PAS و GMS رنگ نمی‌شوند تغییرات اپی‌درم آن شامل هیپرکراتوز، پاراکراتوز، آتروفی یا هیپرپلازی اپی‌درمال می‌باشد. زخم نیز مورد توجه است. لایه بازال پوست