

ایمونوفلوئورسانس بعنوان روش انتخابی در تشخیص لیشمانیوز احشائی (کالا آزار) و معرفی چهار بیمار

مجله نظام پزشکی

سال ششم، شماره ۳، صفحه ۱۸۵، ۲۵۳۶

دکتر غلامحسین ادریسیان* دکتر اسکندر اخوان** دکتر گیتی نمر*** دکتر مهدی حقیقی**** دکتر ابوالحسن زوار*****

مقدمه:

در کالا آزار استقرار بیماری معمولاً مخفیانه و با پیشرفت کند و از نشانه‌های آن تب‌های نامنظم، بزرگی طحال اغلب همراه با بزرگی کبد، کم‌خونی و ضعف عمومی است.

معمولاً تشخیص قطعی بیماری با دیدن جسم لیشمن در آزمایش میکروسکوپی گسترش تهیه شده از بزله طحال، کبد، مغز استخوان و گاهی غدد لنفاوی و رنگ شده بایکی از روشهای رومانفسکی مانند گیمسا، رایت و یالیشن انجام میگیرد. در مواردیکه تعداد انگل کم باشد برای تکثیر از روشهای کشت در محیط ژلوزخون- دارمخصوص (محیط N.N.N) و تلقیح بحیوان حساس آزمایشگاهی (هامستر) استفاده میشود.

در کالا آزار معمولاً گلوبولین‌های سرم خون بخصوص گاما گلوبولین افزایش مییابد. بنابراین از الکتروفورز سرم خون بیماران و آزمون غیر اختصاصی فرمل ژل که این افزایش را نشان میدهند بعنوان روشهای هدایت کننده میتوان استفاده کرد. روشهای سرولوژیائی فیکساسیون کمپلمان، اگلو تیناسیون، هما گلو تیناسیون، پره سی بی تاسیون، ایمونوفلوئورسانس و اخیراً آزمون جدید آنزیمی الیزا (ELISA) (۵) در تشخیص کالا آزار بکار رفته است. بین روشهای ذکر شده در حال حاضر روش غیر مستقیم ایمونو-فلوئورسانس در آزمایشگاههایی که امکان اجرای این آزمون فراهم باشد، یک روش انتخابی است.

این روش برای نخستین بار در سال ۱۹۶۳ توسط Cascio و Odio در لیشمانیوز مورد استفاده قرار گرفت و دانشمندان دیگر بتدریج آنرا برای تشخیص کالا آزار تکمیل کردند (۴).

کالا آزار یک بیماری عفونی است که عامل آن تک یاخته تاژک - داری بنام لیشمانیا دونووانی *L. donovani* و ناقل آن انواع بخصوصی از پشه خاکی از جنس *Phlebotomus* می باشد. انگل بشکل لیشمانیائی بدون تاژک آزاد در سلولهای بیگانه خوار دستگاه رتیکیولو آندوتلیال میزبان مهره دار و بشکل لپتومونائی (تاژک- دار) در میزبان بی مهره (پشه خاکی) و همچنین در محیط کشت رشد و تکثیر پیدا میکند.

کالا آزار در دنیا بصورت کانونهای پراکنده بین ۴۵ درجه عرض شمالی و ۳۵ درجه عرض جنوبی بسه شکل هندی، سودانی و مدیترانه‌ای با اختصاصات اپیدمیولوژیائی گوناگون شیوع دارد. مخزن انگل در شکل هندی خود انسان و در شکل سودانی انسان و احتمالاً جوندگان و در شکل مدیترانه‌ای گوشته‌خواران مانند سگ، روباه و شغال است.

در ایران نوع مدیترانه‌ای وجود دارد و از سال ۱۳۲۸ تا کنون در حدود ۱۲۰ مورد اغلب در اطفال کمتر از ۱۰ سال در مناطق مختلف گزارش شده است. تراکم نسبی موارد گزارش شده در مناطق روستائی نیمه گرمسیر و کوهستانی جنوب غربی ایران بیشتر بوده است.

در ایران جسم لیشمن در احشاء سگ و اخیراً در روباه و شغال گزارش شده است (۳). ناقل بیماری با احتمال قوی پشه خاکی‌هایی از گروه ماژور میباشد.

* دانشکده بهداشت و انستیتوی تحقیقات بهداشتی دانشگاه تهران.

** بیمارستان دکتر اقبال، دانشکده پزشکی پهلوی دانشگاه تهران.

*** بیمارستان پهلوی، دانشکده پزشکی پهلوی دانشگاه تهران.

**** بیمارستان ابن سینا دانشکده پزشکی رازی دانشگاه تهران.

***** مرکز پزشکی آموزشی و درمانی سعادت آباد، دانشکده پزشکی دانشگاه ملی ایران.

منظور از اين مطالعه بكار بردن روش ايمونوفلوروسانس در تشخيص ليشمانيوزا احشائي و ارزشيابي آن در پيدا كردن موارد كم انكل اين بيماري بوده است.

روش بررسي، شرح حال و نتايج آزمايش هريك از بيماران:
 در اين بررسي از آزمون ايمونوفلوروسانس غير مستقيم طبق روشي كه توسط زوين و ادريسيان در سال ۲۵۳۴ در مورد سالك بكار رفته است، بامصرف پسادگن (آنتيژن) تهيه شده از شكل لپتومونائي ليشمانيا دونوواني در محيط كشت و كشته شده آن بوسيله فرمل (۶) استفاده شده است و چهار بيمار با شرح حال زير مورد بررسي قرار گرفته اند.

بیمار اول

الف. م. پسر بچه ۸ ساله، ساكن و متولد آبادان، سابقه بيماري مهمي در خانواده او ذكر نشده است. حالت عمومي خوب، مختصري كم خون و ضعيف، وزن ۱۹ كيلوگرم، حرارت بدن ۳۸/۷ درجه سانتیگراد، سابقه ترانسفوزيون ندارد، درمعاينه ادنوپاتي لمس نشد، طحال يك سانتيمتر و كبد دو سانتيمتر زير دنده ها قابل لمس بود.

بیمار بعلت داشتن تب ب مدت طولاني و لاغري وضعف عمومي ابتدا در يكي از بيمارستانهاي آبادان و بعد در يكي از بيمارستانهاي تهران بستري بوده است و در تاريخ ۳۵/۶/۳۰ به بخش عفوني بيمارستان پهلوي، دانشكده پزشکی پهلوي دانشگاه تهران معرفي و بستري شده است. نتايج اقداماتي كه در بيمارستان قبلي و در بخش عفوني بيمارستان پهلوي جهت تشخيص و درمان بيمار انجام گرفته است، شرح زير مي باشد:

شمارش لكوسيت و فرمول لكوسيت، ۵۰۰۰ لكوسيت با ۵۱٪ نوتروفيل، ۵٪ منوسيت و ۴۴٪ لنفوسيت نشان داده است. تعداد رتيكولوسيت ۲٪ و هموگلوبين اغلب در حدود ۷ گرم درصد، همتوكريت ۲۴٪، سرعت رسوب گلوبولي هميشه بالای ۱۰۰، زمان انعقاد خون ۵ دقيقه و زمان پروترومبين ۱۳ ثانيه (۱۰۰٪) بوده است.

نتايج كشت خون و ادرار، آزمون مانتو، تجسس سلول LE و آزمايش گسترش خون از نظر مالاريا كه بدفعات انجام گرفته منفي بوده است.

در آزمايش ادرار تراس آلپومين ديده شد.

BSP پس از ۴۵ دقيقه ۱۵٪، مقدار بيليروبين تام ۲ و مستقيم آن ۰/۶ ميليگرم درصد، SGOT ۳۰ و SGPT ۳۵ واحد، مقدار الكالين فسفاتاز يك بار ۷/۸ و بار ديگر ۱۸ واحد كينگ بوده است.

در بزل مغز استخوان فعال و سازنده و داراي سلولاريت طبيعي و نكته قابل توجه افزايش پلازما سلهاي رسيده و افزايش ذخيره آهن بوده است. در دو بار بزل مغز استخوان و يك بار بزل طحال و بافت برداري كبد جسم ليشمن ديده نشده است. در بافت كبد ضايعات گرانولوماتوز مشاهده شد.

در راديوگرافي ساده شكم، تصوير طحال بزرگ، ريتين بدون ضايعه و ديافراگم بعلت بزرگي كبد و طحال بطرف بالا رانده شده بود.

آزمایش سرولوژیایی خون بروش ايمونوفلوروسانس غير مستقيم از نظر مالاريا و توکسوپلاسموز منفي بوده است. ولي از نظر ليشمانيوز با پادگن ليشمانيا دونوواني با عيار بالا $\frac{1}{16384}$ بطور قوی و آزمون فرمل ژل بطور متوسط (+ +) مثبت بوده است. الكتروفورز پروتئين سرم خون ۹/۵۲ گرم، پروتئين تام با ۲۶٪ آلپومين، ۴٪ آلفا يك گلوبولين، ۱۱/۴ درصد آلفادو گلوبولين، ۱۴٪ بتا گلوبولين و ۴۴/۵٪ گاما گلوبولين نشان داده است.

در تمام مدت بستري شدن بيمار بطور نامنظم و گاهي متناوب تب ميكرده و حرارت بدن او به ۴۰ درجه سانتیگراد هم ميرسيده است. درمان با داروهای ضد سل و ساير درمانهاي كه در بيمارستانهاي مختلف در مورد اين بيمار اجرا شده است، در قطع تب بي نتيجه بوده است.

اندازه طحال هنگام بستري شدن در بيمارستان قبلي طبيعي و غير قابل لمس گزارش شده است و بعداً بتدريج بزرگ و ميزان بزرگي آن پس از مدتي بستري بودن در بخش عفوني بيمارستان پهلوي به دو بند انگشت رسيده است.

باتوجه به نتايج آزمايشهاي انجام شده بخصوص آزمايش ايمونوفلوروسانس با پادگن ليشمانيا دونوواني و فرمل ژل و الكتروفورز چون نشانهها و نكات مثبت بفع كالا آزار وجود داشت، با وجود اينكه در بزل و نمونه برداري احشاء جسم ليشمن ديده نشده بود، بيمار تحت درمان با تركيب آنتيموان پنج ظرفيتي قرار گرفت. از روز سوم تب بيمار قطع شد و طحال كوچك و غير قابل لمس گرديد و كبد هم كوچكتر شد.

بیمار دوم

ع. خ. مرد ۲۰ ساله، متولد وساكن ساري، محصل. طبق اظهار بيمار مادر او بعلت بيماري كبد فوت کرده است. در ساير افراد خانواده سابقه بيماري مهمي وجود نداشته است.

بیمار بعلت تب ولرز، لاغري مفرط، كم خوني و درد شديد ماهيچهها و اندامها كه از اوائل خرداد ۲۵۳۵ شروع شده است در تاريخ

پس از آزمون دقيق ميكروسكپي بمدت طولاني تعداد خيلى كم جسم ليشمن ديده شد.

بیمار تحت درمان با تركيب پنج ظرفيتي آنتيموان قرار گرفت. از روز دوم تب بیمار قطع شد و در تاريخ ۳۵/۷/۲۱ مرخص گردید.

بیمار سوم:

م. ع. ط. مرد ۲۱ ساله، متولد و اهل نائين كه از ۱۵ سالگي بتهران آمده است و شش ماه از خدمت سربازي را در عمان گذرانده و پس از اتمام خدمت سربازي سال گذشته جهت ادامه تحصيل بهندوستان رفته و در شهر بنگالور مشغول تحصيل در رشته مهندسي بوده است. در تعطيلات زمستاني بتهران باز ميگردد و بعلت بي‌اشتهائي، تب و عرق كه از دو ماه قبل از مراجعت ظاهر شده است و همچنين احساس سنگيني در ناحيه زير دنده طرف چپ بدن در تاريخ ۳۵/۹/۱۷ به بخش خون بیمارستان دكتر اقبال، دانشكده پزشكي پهلوي مراجعه مي كند و بستري ميگردد. بیمار لاغر اندام و باوزن ۶۰ كيلو گرم است سابقه بيماري مهمي را در خانواده ذكر نمي كند.

حالت عمومي نسبتاً خوب و درجه حرارت بدن ۳۸ درجه سانتیگراد بود و اغلب شبها بیمار دچار تب می شد. در لمس شکم کبد بزرگ، طحال خیلی بزرگ و کتله داخل ناحیه وسط و لبه تحتانی با اندازه سه بند انگشت پائین تر از ناف و قوام آن سفت و سطح آن صاف بود. ادنوپاتی کوچکی زیر بزل بیمار سمت چپ حس میشد.

در سطح پوست پشت ساق پای راست بیمار پاپول قهوه‌ای رنگی بابعاد $۱/۵ \times ۱/۵$ سانتی متر وجود داشت که از آن بافت برداری بعمل آمد.

آزمایش های انجام شده:

شمارش وفرمول لکوسیتور ۱۶۰۰ عدد لکوسیت با ۲۷٪ نوتروفیل، ۲۷٪ منوسیت و ۴۶٪ لنفوسیت نشان داده است.

تعداد پلاکت ۱۰۰۰۰۰، مقدار هموگلوبین ۹ گرم درصد، هماتوکريت ۲۷٪، سرعت رسوب گلبولي در ساعت اول ۸۵، زمان پرترومبين ۱۵ ثانیه (شاهد ۱۳ ثانیه). زمان سيلان ۴/۵ دقیقه، SGPT و SGPT ۲۲ واحد بود.

در آزمون ادرار تراس آلومين ديده شد.

آزمون های کازونی و تویر کولین درون پوست منفی بوده است. الکتروفورز پروتئين سرم خون ۷/۰۶ گرم پروتئين تام با ۲۹/۷٪ آلومين، ۶/۲٪ آلفا يك گلوبولين، ۱۱/۶٪ آلفا دو گلوبولين، ۹/۴٪ بتا گلوبولين و ۴۳/۱٪ گاما گلوبولين نشان داد. در بزل طحال تعداد زياد جسم ليشمن داخل و خارج سلولي ديده شد ولي در بزل پونکسيون مغز استخوان انگل ديده نشد.

۳۵/۶/۲ در بخش ايمونوهماتولوژی مرکز پزشكي آموزشي و درمانی سعادت آباد بستري شده است.

بیمار طی سه ماه بیست كيلو لاغر شده، در این مدت اغلب اوقات تب داشته و درجه حرارت بدن او شبها به ۴۱ درجه سانتیگراد ميرسيده است. بچند نفر از پزشکان شهرستانهای شمالي مراجعه کرده و تحت درمان بیماریهائی از قبیل تیفوئید و تب مالت قرار گرفته است.

در معاینه بیمار ضعیف، بیحال، کم خون، مخاطها رنگ پریده و دچار تاکیکاردی بود. در معاینه شکم طحال بزرگ و نرم و چهار بند انگشت زير دنده ها قابل لمس بود. اندازه کبد طبیعی بود و روی پوست شکم در ناحیه کلیه چپ جای زخم بعد از عمل سنگ کلیه که سال قبل انجام گرفته بوده است، دیده میشد.

نتایج آزمایش های انجام شده:

در شمارش عناصر سلولي خون تعداد گلبول قرمز ۲۵۰۰۰۰۰، گلبول سفید ۲۳۰۰، پلاکت ۱۲۰۰۰۰ در میلیمتر مکعب خون بوده است. فرمول لکوسیتور ۵۶٪ نوتروفیل، ۴۳٪ لنفوسیت و ۱٪ ائوزینوفیل نشان داده است. تعداد رتیکولوسیت ۶٪، هموگلوبین ۶/۸ گرم و هماتوکريت ۲۰٪، سرعت رسوب گلبولي ساعت اول ۱۱۷ و ساعت دوم ۱۴۰ بوده است. نتیجه آزمون ميكروسكپي خون از نظر مالاریا و کشت خون که بطور مکرر انجام گرفته است منفي و نتیجه آزمون سرولوژیائی مالاریا باروش ايمونوفلورورسانس نیز منفي بود.

نتایج آزمون های رایت، ویدال، آزمون مانتو، تجسس سلول LE و آزمون «آنتی نوکلئوفاکتور» منفي بود. مقدار G6PD و میزان بیلیروبین خون طبیعی بود.

در الکتروفورز پروتئين سرم خون، مقدار پروتئين تام ۶/۷ گرم با ۴۰٪ آلومين، ۲٪ آلفا يك گلوبولين، ۷٪ آلفا دو گلوبولين، ۲۴٪ بتا گلوبولين و ۲۷٪ گاما گلوبولين بود و در ايمونوالکتروفورز میزان IgG افزايش نشان داده است.

درجه حرارت بدن بیمار بين ۳۷ و ۴۱ درجه سانتیگراد نوسان داشته است و غالباً در اواسط روز درجه حرارت بدن بیمار تقريباً طبیعی بوده است.

در بزل مغز استخوان هيپرپلازی دسته اريتروئید همراه با مکالوبلاستوز خفيف مشاهده شد. در آزمون ميكروسكپي از نظر وجود انگل جسم ليشمن ديده نشد.

چون آزمون ايمونوفلورسانس از نظر کالا آزار باعيار $\frac{1}{۱۰۲۴}$ و آزمون فرمل ژل بطور متوسط (++) مثبت بود، مجدداً بزل مغز استخوان انجام گرفت و در گسترشهای تهیه شده

دقیقه ۱۸٪ و بعد از ۴۵ دقیقه ۰٪، زمان پروترومبین ۱۱ ثانیه (۸۲٪)، الکتروفورز پروتئین سرم خون ۱۱/۸ گرم پروتئین تام با ۲۲٪ آلبومین، ۱/۷٪ آلفا یک گلوبولین، ۳/۴٪ آلفا دو گلوبولین، ۶/۸٪ بتا گلوبولین و ۶۶/۱٪ گاما گلوبولین بوده است. سه هفته بعد از بستری شدن بافت برداری از کبد انجام گرفت. بعد از بافت برداری بیمار سه روز تب کرده است در حالیکه قبل از آن درجه حرارت بدن بیمار گاهی حداکثر به ۳۸ درجه سانتیگراد میرسیده و گاهی هم کمتر از ۳۷ درجه بوده است.

در برش‌های تهیه شده از نمونه بافت کبد، تعداد زیاد اجسام لیشمن درون سلولهای فاگوسیتیک دیده شد. آزمایش ایمونوفلوروسانس غیرمستقیم با پادکن لیشمانیا دونووانی با عیار (۱/۰۲۴) و آزمون فرمل ژن بطور قوی (+++++) مثبت بوده است. بیمار تحت درمان با ترکیب پنج ظرفیتی آنتیموان قرار گرفت. تب او قطع شد و با بهبود نسبی مرخص گردید.

بحث

کالا آزار بیماری و خیمی است که ممکن است میزان مرگ و میر آن به ۹۰ تا ۹۵ درصد برسد ولی تشخیص بموقع و درمان اختصاصی این میزان مرگ و میر را به ۱۰ تا ۵ درصد (۲) و شاید در شرایط فعلی با توجه به پیشرفت علم پزشکی و توسعه روشهای تشخیص آزمایشگاهی و درمانهای کمکی و مواظبت از بیمار بمیزان خیلی کمتری تقلیل میدهد. با توجه بارقام فوق اهمیت روشهای تشخیص بیماری بخوبی روشن میگردد. نشانههای بالینی گاهی مشخص است و پزشک را در مسیر تشخیص قرار میدهد و در بعضی موارد هم بحدی نامشخص و گمراه کننده است که تصادفی و با کمک روشهای تشخیص آزمایشگاهی، پزشک بفکر کالا آزار میافتد. معمولاً برای تشخیص نهائی، همکاری مؤسسات پزشکی و بهداشتی و آزمایشگاههای مجهز تحت نظر مسئولین با تجربه ضرور است. در این بررسی در بیمار اول با وجود داشتن تب بمدت طولانی و در حدود ۶ ماه، بیمار همیشه خوب و سر حال و بزرگی طحال و کبد او خفیف و در ابتدای بیماری تا حدی غیر قابل لمس بود. در بیمار چهارم حرارت بدن بیمار تقریباً طبیعی و در حدود ۰/۰ درجه و گاهی حداکثر یک درجه بوده و بعضی اوقات هم چندعشر ضعف نشان میداده است. بنا بر این مشاهده می شود که تشخیص قطعی بر مبنای نشانههای بالینی مشکل است و با کمک یافتههای پیرا- بالینی می توان به تشخیص قطعی رسید.

روشهای تشخیص آزمایشگاهی که اصول آنها بر مبنای جستجو و دیدن انگل است در صورتیکه منتج بدیدن جسم لیشمن گردد، تردیدی در تشخیص باقی نمی گذارد. ولی در بعضی موارد تعداد

آزمون ایمونوفلوروسانس غیرمستقیم که تقریباً همزمان با بزل طحال انجام گرفت با پادکن لیشمانیا دونووانی با عیار بالا (۱/۱۶۳۸۴) بطور قوی و آزمون فرمل ژل نیز بطور قوی (+++++) مثبت بوده است. در آزمایش میکروسکوپی برش تهیه شده از بیوپسی پاپول موجود در ساق پای بیمار که در بخش هیستوپاتولوژی انستیتو تاج پهلوی انجام گرفت مشاهده شد که اپیدرم کاملاً نازک و آتروفیک است و درم ارتشاح شدید سلولهای هیستوسیتیک تک هسته و بندرت چند هسته ای حاوی تعداد زیاد جسم لیشمن وجود دارد.

بیمار تحت درمان با ترکیب آنتیموان ۵ ظرفیتی بمدت ۱۵ روز قرار گرفت. تب او قطع شد و طحال کوچک گردید و با حال عمومی خوب در تاریخ ۳۵/۱۰/۱۸ مرخص گردید.

بیمار چهارم

ع. م. پسر ۱۵ ساله، متولد وساکن قریه آستانه رودبار دامغان، شغل محصل. تابستانها همراه گله بصحرا میرفته است. پدر بیمار بعلت نامعلوم فوت کرده، سابقه ای از بیماری مسری در خانواده ذکر نمیکند.

بیمار از یک سال و نیم قبل توده ای در زیر دنده های چپ احساس کرده و شکم او بتدریج متورم شده است. برای معالجه چندبار بتهران آمده است و با معرفی یکی از پزشکان تحت عنوان بیمار مبتلا به سیروز در تاریخ ۲۵۳۵/۴/۱ در بخش جراحی بیمارستان ابن سینا، دانشکده پزشکی رازی بستری شده است. بیمار رنگ پریده، لاغر اندام، ضعیف و بیحال است. حال عمومی نسبتاً خوب است و بسئالات جواب میدهد. رنگ پوست و مخاطها طبیعی است.

در معاینه دستگاههای قلب، عروق، تنفس و ادرار عارضه ای مشهود نیست. شکم بزرگ و در لمس نرم و قوام آن طبیعی است. طحال بزرگ و از حد ناف پنج سانتی متر پائین آمده است. کبد نیز بزرگ و پنج سانتی متر زیر دنده قابل لمس است. ادنو پاتی ندارد.

نتایج آزمایشهای انجام شده :

در شمارش گلبولی و فرمول نکو-پتر تعداد گلبول قرمز ۳۱۰۰۰۰۰، لکوسیت ۴۴۰۰ با ۲۶٪ نوتروفیل، ۱٪ ائوزینوفیل، ۹٪ منوسیت و ۶۴٪ لنفوسیت است. سدیماتاسیون ساعت اول ۲۸ و ساعت دوم ۵۹، هموگلوبین ۸/۳ گرم و هماتوکریت ۲۶ درصد است. نتیجه آزمایش خون از نظر مالاریا و آزمون مانتو منفی بوده است. SGOT ۱۱۵ و SGPT ۹۶ واحد، بیلیروبین تام ۷٪، آزمون تیمول ۴ واحد بودانسکی بوده است. BSP بعد از ۱۵

انگل بجدی کم است که در آزمایش گسترش و یا برش تهیه شده از ماده حاصل از بزل و یا بیوپسی جسم لیشمن دیده نمیشود. در چنین موارد معمولاً انگل در محیط کشت هم رشد و تکثیر پیدا نمیکند. تلقیح به هامستر ممکن است سبب رشد و تکثیر انگل گردد ولی طولانی بودن مدتی که برای تکثیر انگل در حیوان لازم است (در حدود یک ماه) استفاده از این روش را محدود میکند. در این بررسی نزد بیمار اول در بزل مغز استخوان که دوبار انجام گرفته است و همچنین در بزل طحال و بافت برداری از کبد، با وجود دقت زیاد در جستجوی انگل، جسم لیشمن دیده نشد. در بیمار دوم تعداد جسم لیشمن در مغز استخوان بجدی کم بود که در بزل اول دیده نشد. پس از آزمایش سرولوژیایی بروش ایمونوفلوئورسانس از نظر کالا آزار و مثبت بودن این آزمون مجدداً بزل مغز استخوان بعمل آمد و در گسترشهای تهیه شده پس از آزمایش طولانی و دقیق میکروسکوپی تعداد خیلی کم جسم لیشمن دیده شد.

در بیمار سوم در بزل مغز استخوان انگل دیده نشد ولی در بزل طحال و برش تهیه شده از پاپول موجود روی پوست ساق پای بیمار تعداد زیادی جسم لیشمن مشاهده گردید.

در بیمار چهارم که مشکوک به سیروز کبد بوده است و از ابتدا بافت برداری از کبد بعمل آمده است، تعداد زیادی جسم لیشمن در برش تهیه شده از بافت کبد دیده شده است.

آزمون غیر اختصاصی فرمل ژل و الکتروفورز پروتئینهای سرم خون اغلب راهنمای خوبی برای تشخیص هستند ولی این آزمایشها معمولاً فقط در مراحل پیشرفته بیماری به تشخیص کمک میکنند. در این بررسی آزمون فرمل ژل در تمام چهار مورد بطور متوسط (++) و یا به طور قوی (++++) مثبت بوده و بین میزان مثبت بودن این آزمون و تعداد انگل کم و بیش نسبت مستقیم وجود داشته است.

در الکتروفورز پروتئینهای سرم خون تمام بیماران افزایش گلوبولینها و بخصوص افزایش قابل ملاحظه گاما گلوبولین دیده میشود. روش سرولوژیایی اختصاصی ایمونوفلوئورسانس با پادگن لیشمانیا دونوانی در این بررسی بهترین نتیجه را در تشخیص بیماری کالا آزار نشان میدهد. چنانچه در بیمار اول که در سه بار آزمایش عیار پادتن در حدود $\frac{1}{16384}$ بوده است نتیجه این آزمون به تنهایی سبب تشخیص کالا آزار شد و پس از درمان با ترکیب آنتیموان، تب بیمار قطع شد و طحال او بتدریج کوچک و غیر قابل لمس گردید. در بیمار دوم نیز مثبت بودن آزمون ایمونوفلوئورسانس از نظر

کالا آزار با عیار $\frac{1}{1024}$ سبب شد بزل مجدد مغز استخوان انجام گیرد و در آزمایش میکروسکوپی دقیق گسترش تهیه شده از ماده حاصل از بزل جسم لیشمن بتعداد خیلی کم دیده شود. در بیمار سوم که در بزل طحال و بیمار چهارم که در بافت برداری از کبد تعداد زیاد جسم لیشمن دیده شده بود، آزمایش ایمونوفلوئورسانس با پادگن لیشمانیا دونوانی نیز بترتیب با عیارهای $\frac{1}{16384}$ و $\frac{1}{1024}$ مثبت بوده است.

بیمارانیکه جهت آزمایش سرولوژیایی از نظر کالا آزار با آزمایشگاه تک یاخته های خون و بافت دانشکده بهداشت معرفی شده اند و نتیجه آزمایش ایمونوفلوئورسانس نمونه خون آنان با پادگن لیشمانیا دونوانی منفی و یا پادتن با عیار کم دیده شده است، نتایج سایر روشهای تشخیصی نیز منفی بوده است و وجود کالا آزار در آنان ثابت نشده است.

در آزمایش ایمونوفلوئورسانس واکنش مشابه بین انواع لیشمانیوز از جمله سالک با پادگن لیشمانیا دونوانی وجود دارد (۶). معمولاً در این مورد نشانه های بالینی و سایر روشهای تشخیص آزمایشگاهی و مختصری اطلاعات اپیدمیولوژیایی تشخیص افتراقی را آسان میکند.

در بیماران مالاریایی نیز گاهی واکنش مشابه با پادگن لیشمانیا دونوانی دیده میشود. عیار پادتن در این موارد معمولاً کمتر از $\frac{1}{64}$ است (۶).

حداقل عیار پادتن برای تشخیص سرولوژیایی کالا آزار با روش ایمونوفلوئورسانس $\frac{1}{16}$ پیشنهاد شده است (۴). با توجه باینکه این حداقل عیار بستگی به بیماریهای عفونی شایع در محل زندگی بیمار و ماهیت و ارزش پادگن تهیه شده و سرم «کنز و گه» که مصرف شده و شرایط آزمایش دارد، لازم است هر آزمایشگاه ضمن اعلام نتیجه حدود حداقل عیار را تعیین نماید. در آزمایشگاه تک یاخته های خون و بافت دانشکده بهداشت و انستیتوی تحقیقات بهداشتی تعیین حداقل عیار برای تشخیص کالا آزار تحت بررسی است. گرچه آزمایشهای «قدماتی ظاهر» این حداقل عیار را $\frac{1}{256}$ نشان میدهد، با توجه به نشانه های بالینی بیماری و نتایج سایر روشهای تشخیص آزمایشگاهی و سابقه بیمار از نظر ابتلا به بعضی از بیماریهای عفونی ارزش این میزان حداقل قابل تفسیر است. یکی دیگر از بیماریهایی که مانند کالا آزار با پادگن لیشمانیا دونوانی واکنش مشابه نشان میدهد، بیماری شاگاس است. در مناطقی که بیماری شاگاس وجود دارد لازم است قبلاً پادتنهای مربوط به بیماری شاگاس موجود در سرم بیمار با پادگن تربیا-

سال بوده است، در صورتیکه در چهار مورد این بررسی سه تن از بیماران بیش از ۱۰ سال داشته اند.

درمان با ترکیب آنتی‌میران پنج ظرفیتی (گلو کانتیم) بمقدار روزانه ۰.۶ تا ۱.۰ می‌ایگرم برای هر کیلوگرم وزن بدن بصورت محلول ۳۰٪ از راه تزریق داخل عضلانی بمدت ۱۰ تا ۱۵ روز در قطع تب، کوچک شدن طحال و بهبود وضع بیماران نتیجه خیلی خوب و سریع داشته است. با توجه بارزش منحصر بفرد ترکیبات پنج ظرفیتی آنتی‌سوان در درمان اختصاصی کالا آزار و سالک توجه مقامات مسئول وزارت بهداشتی و بهزیستی را بفراموش کردن تسهیلات لازم جهت وارد کردن این ترکیبات بمقدار کافی معطوف میدارد.

خلاصه:

در تشخيص آزمایشگاهی کالا آزار در چهار بیمار بستری شده در بیمارستانهای تهران از روشهایی که مورد استفاده قرار گرفت روش ايمونوفلوئورسانس غير مستقيم با استفاده از پادگن تهیه شده از ليشمانيا دو نوواني بهترین نتیجه را در تشخيص بیماری نشان داد. عيار پادتن در این بیماران $\frac{1}{1034}$ تا $\frac{1}{16384}$ بود. دردو تن از بیماران در یکی با تعداد خیلی کم جسم ليشمن که در آزمایش مجدداً نگل‌شناسی دیده شد و در دیگری که در آزمایش‌های مکرر انگل دیده نشد، روش ايمونوفلوئورسانس نقش اصلی را در تشخيص بیماری داشته است. از نتایج این بررسی استنباط میشود که میزان شیوع و تعداد موارد بیماری کالا آزار در ایران خیلی بیش از مواردی بوده است که تاکنون با استفاده از روش انگل‌شناسی تشخيص داده شده است.

سپاسگذاری

از راهنمایی آقایان دکتر ابوالحسن ندیم، دکتر علیرضا یلدا و همکاری صمیمانه دکتر حمید ائینی، دکتر محمدحسینی، دکتر جواد فیاض، خانم پروین دارابیان و آقای قسنت تجویلدار بیدرونی تشکر و قدردانی میشود.

نوزوم کروزى جذب گردد (۱).

بطور کلی میتوان گفت در صورتیکه تسهیلات وامكانات لازم جهت اجرای آزمون ايمونوفلوئورسانس فراهم باشد این آزمون در تشخيص کالا آزار يك روش با ارزش و عملی و در حال حاضر يك روش انتخابی است.

چهار بیمار کالا آزاری که شرح حال آنان در این گزارش آمده است، طی ۶ ماه به بیمارستانهای تهران معرفی شده اند با این ترتیب تعداد واقعی موارد کالا آزار باید خیلی بیش از ۱۲۰ موردی باشد که از سال ۲۵۰۸ تاکنون در تمام ایران گزارش شده است. در تأیید این ادعا میتوان گفت اولاً اکثر بیماران گزارش شده از نفاط دور افتاده و روستائی پس از مایوس شدن از تشخيص و درمان پزشکان محلی که بعلت کم بودن موارد کالا آزار تجربه کافی در تشخيص این بیماری ندارند و یا امکانات تشخيص آزمایشگاهی در دسترس آنان نیست، به بیمارستانهای مراکز استان و یا تهران مراجعه کرده اند و بعلت اینکه استقرار بیماری در کالا آزار مخفی و کند و معمولاً بی تظاهرات حاد صورت میگیرد، اصولاً عده‌ای از بیماران بیزشك و یا بیمارستان مراجعه نمیکنند. ثانیاً تشخيص آزمایشگاهی ۱۲۰ مورد گزارش شده اغلب بر مبنای دیدن جسم ليشمن در گسترش تهیه شده از بزل مغز استخوان بوده و به نسبت کمتری بزل طحال و بافت برداری از کبد انجام گرفته است. در صورتیکه در این بررسی از سه بیمار که در آنان بزل مغز استخوان انجام گرفته است فقط در يك مورد جسم ليشمن دیده شده است و از چهار بیمار در دو مورد روش سرولوژیائی ايمونوفلوئورسانس در تشخيص کالا آزار نقش اصلی را داشته است.

طبق تجارب شخصی دکتر ابوالحسن ندیم، در کالا آزار نزد افراد بزرگسال در ایران اغلب جسم ليشمن در بافت کم یافت میشود و نشانه‌های بالینی هم خفیف است.

در ۱۲۰ مورد گزارش شده سن بیش از ۷۵٪ بیماران کمتر از ۱۰

REFERENCES:

- 1- Canvargo, M. E. and Rebonato, C., Cross-reactivity in fluorescent test for Trypanosoma and Leishmania antibodies. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 18, 500, 1969.
- 2- Manson - Bahr Sir Philip, H., Manson's Tropical Diseases. Bailliere Tindall & Cassell P. 127, 1966.
- 3- Nadim, A., Navid - Hamidi, A., Javadian, E., Tahvildar - Bidruni, Gh. and Amini, H., Present status of Kala - Azar in Iran. Amer. J. Trop. Med. & Hyg. 25, 27- 28, 1978.
- 4- Sydney Cohen & Elvio Sadun, Immunology of Parasitic Diseases. Blackwell, PP. 70 - 71, 1976.
- 5- Voller, A., Bartlett A., and Bidwell, D. E., Enzyme immunoassays for parasitic diseases. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg. 70, 98 - 106, 1976.

۶- زوین- ز، ادريسيان- غ. ح. استفاده از روش فلوئورسانس آنتی‌بادی در تشخيص سالک - مجله بهداشت ایران، سال چهارم، صفحه‌های ۱۳۹-۱۴۵، سال ۱۳۵۴.