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

مجلهٔ نظام پزشکی
سال ششم ، شماره ۳ ، صفحه ۱۸۵ ، ۲۵۳۶

دکترغلامحسین ادریسیان* دکتراسکندر اخوان** دکترگیتی ثمر *** دکترمهدی حفیظی**** دکتر ابوالحسن زوار *****

مقدمه :

کالاآزار یك بیماری عفونی است که عامل آن تك یاخته تاژك - داری بنام لیشمانیا دونووانی L. donovani و ناقل آن انواع بخصوصی ازپشه خاکی از جنس Phlebotomus می‌باشد. انگل بشکل لیشمانیائی بدون تاژك آزاد درسلولهای بیگانه خواردستگاه رتیکولوآندوتلیال میزبان مهره دار وبشکل لپتومونائی (تاژك- دار) در میزبان بی‌مهره (پشه خاکی) و همچنین در محیط کشت رشد و تکثیر پیدا میکند.

کالازار در دنیا بصورت کانونهای پراکنده بین ۴۵ درجه عرض شمالی و ۳۵ درجه عرض جنوبی به شکل هندی، سودانی و مدیترانه‌ای بااختصاصات اپیدمیولوژیائی گوناگون شیوع دارد. مخزن انگل درشکل هندی خود انسان و درشکل سودانی انسان و احتمالاً جوندگان و درشکل مدیترانه‌ای گوشتخواران مانند سگ ، روباه و شغال است .

درایران نوع مدیترانه‌ای وجود دارد و از سال ۱۳۲۸ تاکنون درحدود ۱۲۰ مورد اغلب در اطفال کمتر از ۱۰ سال درمناطق 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 واخیراً در روباه و شغال گزارش شده‌است(۳). ناقل بیماری باحتمال‌قوی پشه‌خاکی‌هائی ازگروه ماژور میباشد .

درکالاآزار استقرار بیماری معمولا مخفیانه و با پیشرفت کند واز نشانه‌های آن تب‌های نامنظم، بزرگی‌طحال‌اغلب همراه‌بابزرگی کبد، کم خونی و ضعف عمومی است.

معمولا تشخیص قطعی بیماری با دیدن جسم لیشمن در آزمایش میکروسکپی گسترش تهیه شده ازبزل طحال، کبد، مغزاستخوان وگاهی غدد لنفاوی و رنگ شده بایکی از روشهای رومانفسکی مانندگیمسا، رایت و یالیشمن انجام میگیرد. در مواردیکه تعداد انگل کم‌باشد برای تکثیر از روشهای کشت درمحیط ژلوزخون- دارمخصوص (محیط.N.N.N) وتلقیح بحیوان‌حساس‌آزمایشگاهی (هامستر) استفاده میشود.

درکالاآزارمعمولا گلوبولین‌های سرم‌خون بخصوص گاماگلوبولین افزایش میابد . بنابراین ازالکتروفورز سرم خون بیماران و آزمون غیراختصاصی فرمل ژل که این افزایش را نشان میدهند بعنوان روشهای هدایت‌کننده میتوان استفاده کرد . روشهای سرولوژیائی‌فیکساسیون کمپلمان، اگلوتیناسیون، هماگلوتیناسیون، پره سی‌پی‌تاسیون ، ایمونوفلوئورسانس و اخیراً آزمون جدید آنزیمی الیزا (ELISA) (۵) درتشخیص کالاآزار بکار رفته‌است .

بین روشهای ذکر شده در حال حاضر روش غیر مستقیم ایمونو- فلوئورسانس در آزمایشگاههائی‌که امکان اجرای این آزمون فراهم باشد ، یك روش انتخابی است .

این‌روش برای‌نخستین‌باردرسال ۱۹۶۳ توسط Oddo وCascio درلیشمانیوز مورداستفاده قرارگرفت و دانشمندان دیگر بتدریج آنرا برای تشخیص کالاآزار تکمیل کردند(۴).

---

* دانشکده بهداشت و انستیتوی تحقیقات بهداشتی دانشگاه تهران.
** بیمارستان دکتر اقبال ، دانشکده پزشکی پهلوی دانشگاه تهران.
*** بیمارستان پهلوی ، دانشکده پزشکی پهلوی دانشگاه تهران .
**** بیمارستان ابن‌سینا دانشکده پزشکی رازی دانشگاه تهران.
***** مرکز پزشکی آموزشی و درمانی سعادت‌آباد ، دانشکده پزشکی دانشگاه ملی ایران .

منظور از این مطالعه بکار بردن روش ایمونوفلوئورسانس در تشخیص لیشمانیوز احشائی و ارزشیابی آن در پیدا کردن موارد کم انگل این بیماری بوده است.

روش بررسی، شرح حال و نتایج آزمایش هریك از بیماران:

دراین بررسی ازآزمون ایمونوفلورسانس غیرمستقیم طبق روشی که توسط زوین و ادریسیان در سال ۲۵۳۴ در مورد سالك بکار رفته است، بامصرف پادگن (آنتی‌ژن) تهیه شده از شکل لپتومونائی لیشمانیا دونووانی درمحیط کشت وکشته شده آن بوسیله فرمل (۶) استفاده شده است و چهار بیمار با شرح حال زیر مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

بیمار اول

الف. م. پسر بچه ۸ ساله، ساکن ومتولد آبادان، سابقه بیماری مهمی در خانواده او ذکر نشده است. حالت عمومی خوب، مختصری کم خون و ضعیف، وزن ۱۹ کیلوگرم، حرارت بدن ۳۸/۷ درجه سانتیگراد، سابقه ترانسفوزیون ندارد، درمعاینه ادنوپاتی لمس نشد، طحال یك سانتیمتر وکبد دو سانتیمتر زیر دنده‌ها قابل لمس بود.

بیمار بعلت داشتن تب بمدت طولانی و لاغری وضعف عمومی ابتدا در یکی از بیمارستانهای آبادان وبعد در یکی از بیمارستانهای تهران بستری بوده است و درتاریخ ۳۵/۶/۳۰ به بخش عفونی بیمارستان پهلوی، دانشکده پزشکی پهلوی دانشگاه تهران معرفی و بستری شده است. نتایج اقداماتی که در بیمارستان قبلی و در بخش عفونی بیمارستان پهلوی جهت تشخیص و درمان بیمار انجام گرفته‌است، بشرح زیر می‌باشد:

شمارش لکوسیت و فرمول لکوسیتر، ۵۰۰۰ لکوسیت با ۵۱٪ نوتروفیل، ۵٪ منوسیت و ۴۴٪ لنفوسیت نشان داده است. تعداد رتیکولوسیت ۲٪ و هموگلوبین اغلب در حدود ۷ گرم درصد، هماتوکریت ۲۴٪، سرعت رسوب گلبولی همیشه بالای ۱۰۰، زمان انعقادخون ۵ دقیقه وزمان پروترومبین ۱۳ ثانیه (۱۰۰٪) بوده است.

نتایج کشت خون و ادرار، آزمون مانتو، تجسس سلول LE و آزمایش گسترش خون از نظر مالاریا که بدفعات انجام گرفته منفی بوده است.

در آزمایش ادرار تراس آلبومین دیده شد.

BSP پس از ۴۵ دقیقه ۱۵٪، مقدار بیلیروبین تام ۲ ومستقیم آن ۰/۶ میلیگرم درصد، SGOT ۳۰ و SGPT ۳۵ واحد، مقدار الکالن فسفاتاز یك بار ۷/۸ و بار دیگر ۱۸ واحد کینگ بوده است.

در بزل مغز استخوان فعال و سازنده و دارای سلولاریته طبیعی ونکته قابل توجه افزایش پلاسما سل‌های رسیده وافزایش ذخیره آهن بوده است. در دوبار بزل مغز استخوان ویك بار بزل طحال و بافت‌برداری کبد جسم لیشمن دیده نشده است. در بافت کبد ضایعات گرانولوماتوز مشاهده شد.

در رادیوگرافی ساده شکم، تصویر طحال بزرگ، ریتین بدون ضایعه و دیافراگم بعلت بزرگی کبد و طحال بطرف بالا رانده شده بود.

آزمایش سرولوژیائی خون بروش ایمونوفلوئورسانس غیرمستقیم از نظر مالاریا و توکسوپلاسموز منفی بوده است. ولی از نظر لیشمانیوز با پادگن لیشمانیا دونووانی باعیار بالا $\frac{1}{16384}$ بطور قوی و آزمون فرمل ژل بطور متوسط (++) مثبت بوده‌است. الکتروفورز پروتئین سرم خون ۹/۵۲ گرم، پروتئین تام با ۲۶٪ آلبومین، ۴٪ آلفا یك گلوبولین، ۱۱/۴ درصد آلفادو گلوبولین، ۱۴٪ بتاگلوبولین و ۴۴/۵٪ گاما گلوبولین نشان داده است.

درتمام مدت بستری شدن بیمار بطور نامنظم وگاهی متناوب تب میکرده و حرارت بدن او به ۴۰ درجه سانتیگراد هم میرسیده است. درمان با داروهای ضد سل و سایر درمان‌هائی که در بیمارستانهای مختلف درمورد این بیمار اجرا شده است، در قطع تب بی‌نتیجه بوده است.

اندازه طحال هنگام بستری شدن در بیمارستان قبلی طبیعی و غیرقابل‌لمس گزارش شده‌است وبعداً بتدریج بزرگ و میزان بزرگی آن پس‌از مدتی بستری بودن در بخش عفونی بیمارستان پهلوی به دو بند انگشت رسیده است.

باتوجه به نتایج آزمایش‌های انجام شده بخصوص آزمایش ایمونوفلوئورسانس باپادگن لیشمانیا دونووانی وفرمل‌ژل والکتروفورز چون نشانه‌ها و نکات مثبت بنفع کالاآزار وجود داشت، با وجود اینکه دربزل ونمونه‌برداری احشاء جسم لیشمن دیده‌نشده بود، بیمار تحت درمان با ترکیب آنتیموان پنج ظرفیتی قرار گرفت. از روز سوم تب بیمار قطع شد و طحال کوچك وغیرقابل لمس گردید وکبد هم کوچکتر شد.

بیمار دوم

ع. خ. مرد ۲۰ ساله، متولد وساکن ساری، محصل. طبق اظهار بیمار مادر او بعلت بیماری کبد فوت کرده است. در سایر افراد خانواده سابقه بیماری مهمی وجود نداشته است.

بیماربعلت تب ولرز، لاغری مفرط، کم‌خونی ودرد شدید ماهیچه‌ها و اندامها که از اوائل خرداد ۲۵۳۵ شروع شده است در تاریخ

۳۵/۶/۲ در بخش ایمونو هماتولوژی مرکز پزشکی آموزشی و درمانی سعادت آباد بستری شده است.

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

در معاینه بیمار ضعیف، بیحال، کم خون، مخاطها رنگ پریده و دچار تاکیکاردی بود. درمعاینه شکم طحال بزرگ و نرم وچهار بند انگشت زیر دنده‌ها 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 آزمایش‌های انجام شده:

درشمارش عناصر سلولی خون تعداد گلبول قرمز ۲۵۰۰۰۰۰، گلبول سفید ۲۳۰۰، پلاکت ۱۲۰۰۰۰ در میلیمتر مکعب خون بوده‌است. فرمول لکوسیتر ۵۶٪ نوتروفیل، ۴۳٪ لنفوسیت و ۱٪ ائوزینوفیل نشان داده‌است. تعداد رتیکولوسیت ۶٪، هموگلوبین ۶/۸ گرم و هماتوکریت ۲۰٪، سرعت رسوب گلبولی ساعت اول ۱۱۷ وساعت دوم ۱۴۰ بوده است. نتیجه آزمایش میکروسکپی خون از نظر مالاریا و کشت خون که بطور مکرر انجام گرفته است منفی و نتیجه آزمایش سرولوژیائی مالاریا باروش ایمونوفلوئورسانس نیز منفی بود.

نتایج آزمایش‌های رایت، ویدال، آزمون مانتو، تجسس سلول LE و آزمون «آنتی‌نوکلئر فاکتور» منفی بود. مقدار G6PD و میزان بیلیروبین خون طبیعی بود.

درالکتروفورز پروتئین سرم‌خون، مقدار پروتئین‌تام ۶/۷ گرم با ۴۰٪ آلبومین، ۲٪ آلفا یك گلوبولین، ۷٪ آلفا دوگلوبولین، ۲۴٪ بتا گلوبولین و ۲۷٪ گاما گلوبولین بود ودر ایمونوالکترو فورز میزان IgG افزایش نشان داده است.

درجه‌حرارت بدن بیمار بین ۳۷ و ۴۱ درجه سانتیگراد نوسان داشته است وغالباً در اواسط روز درجه‌حرارت بدن بیمار تقریباً طبیعی بوده است.

در بزل مغز استخوان هیپرپلازی دستهٔ اریتروئید همراه با مگالوبلاستوز خفیف مشاهده شد. در آزمایش میکروسکپی از نظر وجود انگل جسم لیشمن دیده نشد.

چون آزمایش ایمونوفلوئورسانس از نظر کالاآزار باعیار $\frac{1}{1024}$ و آزمون فرمل ژل بطور متوسط (++) مثبت بود، مجدداً بزل مغز استخوان انجام گرفت و درگسترشهای تهیه شده پس‌از آزمایش دقیق میکروسکپی بمدت طولانی تعداد خیلی کم جسم لیشمن دیده شد.

بیمار تحت درمان با ترکیب پنج ظرفیتی آنتیموان قرار گرفت. از روز دوم تب بیمار قطع شد و در تاریخ ۳۵/۷/۲۱ مرخص گردید.

بیمار سوم:

م. ع. ط. مرد ۲۱ ساله، متولد و اهل نائین که از ۱۵ سالگی بتهران آمده است و شش ماه از خدمت سربازی را در عمان گذرانده و پس از اتمام خدمت سربازی سال گذشته جهت ادامه تحصیل بهندوستان رفته و درشهر بنگالور مشغول تحصیل دررشته مهندسی بوده است. در تعطیلات زمستانی بتهران باز میگردد و بعلت بی‌اشتهائی، تب و عرق که از دو ماه قبل از مراجعت ظاهر شده است وهمچنین احساس سنگینی در ناحیه زیر دنده طرف‌چپ بدن درتاریخ ۳۵/۹/۱۷ به بخش خون بیمارستان دکتر اقبال، دانشکده پزشکی پهلوی مراجعه می‌کند و بستری میگردد.

بیمار لاغر اندام و باوزن ۶۰ کیلو گرم است سابقه بیماری‌مهمی را در خانواده ذکر نمیکند.

حالت عمومی‌نسبتاً خوب ودرجه‌حرارت‌بدن ۳۸ درجه‌سانتیگراد بود واغلب شبها بیمار دچار تب می‌شد. در لمس شکم کبد بزرگ، طحال خیلی‌بزرگ و کناره‌داخلی ناحیه‌وسط ولبه تحتانی باندازه سه بند انگشت پائین‌تر از ناف و قوام آن سفت و سطح آن‌صاف بود. ادنوپاتی کوچکی زیر بغل بیمار سمت چپ حس میشد.

در سطح پوست پشت ساق پای راست بیمار پاپول قهوه‌ای رنگی بابعاد ۱/۵×۱/۵ سانتیمتر وجود داشت که ازآن بافت‌برداری بعمل آمد.

آزمایش‌های انجام شده:

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

تعداد پلاکت ۱۰۰۰۰۰، مقدار هموگلوبین ۹ گرم درصد، هماتوکریت ۲۷٪، سرعت‌رسوب گلبولی درساعت اول ۸۵، زمان پروترومبین ۱۵ ثانیه (شاهد ۱۳ ثانیه)، زمان سیلان ۴/۵ دقیقه، SGOT و SGPT ۲۲ واحد بود.

در آزمایش ادرار تراس آلبومین دیده شد.

آزمون‌های کازونی و توبرکولین درون پوست منفی بوده است.

الکتروفورز پروتئین سرم خون ۷/۰۶ گرم پروتئین تام با ۲۹/۷٪ آلبومین، ۶/۲٪ آلفا یك گلوبولین، ۱۱/۶٪ آلفا دو گلوبولین، ۹/۴٪ بتا گلوبولین و ۴۳/۱٪ گاما گلوبولین نشان‌داد.

دربزل طحال تعداد زیاد جسم لیشمن داخل وخارج سلولی دیده شد ولی در بزل پونکسیون مغز استخوان انگل دیده نشد.

آزمون ایمونو فلوئور سانس غیرمستقیم کـه تقریباً همزمـان با بزل طحال انجام گرفت بـا پادگن لیشمانیا دونووانی بـاعیار بالا ($\frac{1}{16384}$) بطـور قوی و آزمـون فرمل ژل نیز بطور قوی (++++) مثبت بوده است . درآزمـایش میکرسکوپی برش تهیه شده از بیوپسی پاپول موجود درساق پای بیمار که در بخش هیستوپاتولوژی انستیتو تـاج پهلوی انجام گرفت مشاهده شد که اپیدرم کاملانازك وآتروفیك‌است ودر درم‌ارتشاح شدیدسلولهای هیستیوسیتیك تك هسته و بندرت چند هسته‌ای حاوی تعداد زیـاد جسم لیشمن وجود دارد .

بیمار تحت درمان باترکیب آنتیموان ۵ ظرفیتی بمدت ۱۵ روز قرارگرفت. تب او قطع شد و طحـال کوچك گردید و با حال عمومی خوب درتاریخ ۳۵/۱۰/۱۸ مرخص گردید.

بیمار چهارم

ع. م. پسر ۱۵ ساله، متولد وساکن قریه‌آستانه رودباردامغان ، شغل محصل. تابستان‌ها همراه‌گله بصحرا میرفته است. پدر بیمار بعلت نامعلوم فوت کرده، سابقه‌ای از بیماری مسری در خانواده ذکر نمیکند.

بیمار ازیك سال ونیم قبل توده‌ای در زیر دنده‌های چپ احساس کرده و شکم او بتدریج متورم شده است. برای معالجه چندبار بتهران آمده است و با معرفی یکی از پزشکان تحت عنوان‌بیمار مبتلابه‌سیروز درتاریخ ۲۵۳۵/۴/۱ دربخش جراحی‌بیمارستان ابن‌سینا ، دانشکده پزشکی رازی بستری شده است .

بیمار رنگ‌پریده، لاغر اندام، ضعیف وبیحال است. حال‌عمومی نسبتاً خوب‌است وبسئوالات جواب میدهد. رنگ‌پوست ومخاطها طبیعی است.

درمعاینه دستگاههای قلب، عروق، تنفس وادرار عارضه‌ای مشهود نیست. شکم‌بزرگ و درلمس نرم و قوام آن طبیعی است. طحال بزرگ وازحد ناف پنج‌سانتیمتر پائین آمده‌است. کبد نیز بزرگ و پنج سانتیمتر زیر دنده قابل لمس است. ادنو پاتی ندارد.

نتایج آزمایش‌های انجام شده :

در شمـارش گلبولی و فرمول لکوسیتر تعـداد گلبول قرمـز ۳۱۰۰۰۰۰،لکوسیت ۴۴۰۰ با۲۶٪ نوتروفیل، ۱٪ ائوزینوفیل، ۹٪ منوسیت و۶۴٪ لنفوسیت است. سدیمانتاسیون ساعت اول ۲۸ وساعت دوم ۵۹، هموگلوبین ۸/۳ گرم وهماتوکریت ۲۶درصد است. نتیجه آزمایش خون از نظر مالاریا و آزمون مانتو منفی بوده‌است. SGOT ۱۱۵و SGPT ۹۶واحد، بیلیروبین تام ۷٪، آزمون تیمول ۴ واحد بودانسکی بوده است. BSP بعد از ۱۵ دقیقه ۱۸٪ و بعداز ۴۵ دقیقه ۰٪ ، زمان پروترومبین ۱۱ ثانیه (۸۲٪)، الکتروفورز پروتئین سرم خون ۱۱/۸ گرم پروتئین تام با ۲۲٪ آلبومین، ۱/۷٪ آلفا یك‌گلوبولین، ۳/۴٪ آلفادو گلوبولین، ۶/۸٪ بتاگلوبولین و۶۶/۱٪ گاماگلوبولین بوده‌است. سه‌هفته بعداز بستری‌شدن بافت‌برداری‌ازکبد انجام گرفت. بعداز بافت‌برداری بیمار سه روز تب‌کرده است درحالیکه قبل از آن درجه حرارت بدن بیمارگاهی حداکثر به۳۸ درجه سانتیگراد میرسیده وگاهی هم‌کمتر از ۳۷ درجه بوده است.

در برش‌های تهیه شده ازنمونه بافت‌کبد، تعداد زیاد اجسام‌لیشمن درون سلولهای‌فاگوستیك دیده شد. آزمایش ایمونوفلوئورسانس غیرمستقیم باپادگن لیشمانیا دونووانی با عیار ($\frac{1}{1024}$) وآزمون فرمل ژن بطور قوی (++++) مثبت بوده است.

بیمار تحت درمان با ترکیب پنج ظرفیتی آنتیموان قرارگرفت. تب او قطع شد و با بهبود نسبی مرخص گردید.

بحث

کالاآزار بیماری وخیمی است‌که ممکن است میزان مرگ ومیر آن به۹۰تا۹۵درصد برسد ولی‌تشخیص بموقع ودرمان‌اختصاصی این میزان مرگ و میر را به ۱۰ تا ۵ درصد (۲) و شایـد در شرایط فعلی با توجه به پیشرفت علم پزشکی و توسعه روشهـای تشخیص‌آزمایشگاهی ودرمانهای‌کمکی ومواظبت از بیماربمیزان خیلی‌کمتری تقلیل میدهد. با توجه بارقام فوق اهمیت روشهـای تشخیص بیمـاری بخوبی روشن میگردد . نشانه‌های بالینی‌گاهی مشخص است وپزشك را درمسیر تشخیص قرار میدهد و در بعضی موارد هم‌بحدی نامشخص وگمراه‌کننده‌است‌که تصادفی و باکمك روشهای‌تشخیص‌آزمایشگاهی، پزشك بفکر کالاآزار میافتد. معمولا برای تشخیص نهائی ، همکاری مؤسسات پزشکی و بهـداشتی و آزمایشگاههای مجهز تحت نظر مسئولین با تجربه ضرور است.

در این بررسی دربیمار اول با وجود داشتن تب بمدت طولانی‌و درحدود ۶ ماه، بیمارهمیشه خوب و سرحال و بزرگی طحال و کبد او خفیف و در ابتدای بیماری تا حـدی غیرقابل لمس بود. دربیمارچهارم حرارت بدن بیمار تقریباً طبیعی و درحدود۰/۱ درجه وگاهی حداکثر یك‌درجه بوده وبعضی اوقات هم چندعشر ضعف نشان میداده‌است. بنابراین‌مشاهده می‌شود‌که تشخیص‌قطعی برمبنای نشانه‌های بالینی مشکل است و باکمك یافته‌های پیرا-بالینی می‌توان به تشخیص قطعی رسید.

روشهای تشخیص آزمایشگاهی‌که اصول آنها برمبنای جستجو و دیدن انگل است در صورتیکـه منتج بدیدن جسم لیشمن گردد ، تردیدی در تشخیص باقی نمی‌گذارد. ولی در بعضی موارد تعداد

انگل بحدی کم است که در آزمایش گسترش و یا برش تهیه شده از ماده حاصل از بزل و یا بیوپسی جسم لیشمن دیده نمیشود. درچنین موارد معمولا انگل در محیط کشت هم رشد و تکثیر پیدا نمیکند. تلقیح به هامستر ممکن است سبب رشد و تکثیر انگل گردد ولی طولانی بودن مدتیکه برای تکثیر انگل درحیوان لازم است (درحدود یك 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 درجستجوی انگل، جسم لیشمن دیده نشد. در بیمار دوم تعداد جسم لیشمن در مغز استخوان بحدی کم بود که در بزل اول دیده نشد. پس از آزمایش سرولوژیائی بروش ایمونو فلوئور سانس از نظر کالاآزار و مثبت بودن این آزمون مجدداً بزل مغز استخوان بعمل آمد ودر گسترشهای تهیه شده پس از آزمایش طولانی ودقیق میکرسکپی 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 مشکوك 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 فرملژل و الکتروفورز پروتئین‌های سرم خون اغلب راهنمای خوبی برای تشخیص هستند ولی این آزمایش‌ها معمولا فقط در مراحل پیشرفته بیماری به تشخیص کمك میکنند. دراین بررسی آزمون فرملژل در تمام چهار مورد بطورمتوسط (++) ویا به‌طور قوی (+++) مثبت بوده و بین میزان مثبت بودن این آزمون وتعداد 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 سرولوژیائی اختصاصی ایمونوفلوئورسانس باپادگن لیشمانیا دونووانی در این بررسی بهترین نتیجه را در تشخیص بیماری کالاآزار نشان میدهد. چنانچه در بیمار اول که در سه‌بار آزمایش عیار پادتن درحدود $\frac{1}{16384}$ بوده است نتیجه این آزمون به تنهائی سبب تشخیص کالاآزار شد وپس ازدرمان باترکیب آنتیموان، تب بیمار قطع شد وطحال او بتدریج کوچك وغیرقابل لمس گردید. در بیمار دوم نیز مثبت بودن آزمون ایمونوفلوئورسانس ازنظر کالاآزار باعیار $\frac{1}{1024}$ سبب شد بزل مجدد مغز استخوان انجام گیرد و در آزمایش میکروسکپی 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 زیادجسم لیشمن دیده شده بود، آزمایش ایمونوفلوئورسانس باپادگن لیشمانیا دونووانی نیز بترتیب باعیارهای $\frac{1}{16384}$ و $\frac{1}{1024}$ مثبت بوده است.

بیمارانیکه جهت آزمایش سرولوژیائی ازنظر کالاآزار بآزمایشگاه تك یاخته‌های خون و بافت دانشکده بهداشت معرفی شده‌اند ونتیجه آزمایش ایمونوفلوئورسانس نمونه خون آنان باپادگن لیشمانیا دونووانی منفی ویا پادتن با عیار کم دیده شده است، نتایج سایر روشهای تشخیصی نیز منفی بوده است و وجود کالاآزار در آنان ثابت نشده است.

در آزمایش ایمونو فلوئورسانس و اکنش مشابه بین انواع لیشمانیوز ازجمله سالك با پادگن لیشمانیا دونووانی وجوددارد (۶). معمولا دراین موردنشانه‌های بالینی وسایر روشهای تشخیص آزمایشگاهی ومختصری اطلاعات اپیدمیولوژیائی تشخیص افتراقی را آسان میکند.

دربیماران مالاریائی نیز گاهی واکنش مشابه با پادگن لیشمانیا دونووانی دیده میشود. عیار پادتن در این موارد معمولا کمتر از $\frac{1}{64}$ است (۶).

حداقل عیار پادتن برای تشخیص سرولوژیائی کالاآزار با روش ایمونوفلورسانس $\frac{1}{100}$ پیشنهاد شده است (۴). باتوجه باینکه این حداقل عیار بستگی به بیماریهای عفونی شایع در محل زندگی بیمار وماهیت وارزش پادگن تهیه شده وسرم «کنترل» که مصرف شده وشرایط آزمایش دارد، لازم است هر آزمایشگاه ضمن اعلام نتیجه حدود حداقل عیار را تعیین نماید. در آزمایشگاه تك یاخته‌های خون و بافت دانشکده بهداشت و انستیتوی تحقیقات بهداشتی تعیین حداقل عیار برای تشخیص کالاآزار تحت بررسی است. گرچه آزمایش‌های مقدماتی ظاهراً این حداقل عیاررا $\frac{1}{256}$ نشان میدهد، با توجه به نشانه‌های بالینی بیماری و نتایج سایر روشهای تشخیص آزمایشگاهی و سابقه بیمار ازنظر ابتلا به‌بعضی از بیماریهای عفونی ارزش این میزان حداقل قابل تفسیر است. یکی دیگر از بیماریهائی که مانندکالاآزار با پادگن لیشمانیا دونووانی واکنش مشابه نشان میدهد، بیماری شاگاس است. در مناطقی که بیماری شاگاس وجود دارد لازم است قبلا پادتن‌های مربوط به بیماری شاگاس موجود درسرم بیمار با پادگن تریپا-

نوزوم کروزی جذب گردد (۱).

بطور کلی میتوان گفت درصورتیکه تسهیلات و امکانات لازم جهت اجرای آزمون ایمونوفلوئورسانس فراهم باشد این آزمون در تشخیص کالاآزار یك روش با ارزش وعملی و درحال حاضر یك روش انتخابی است .

چهار بیمار کالاآزاری که شرح حال آنان در این گزارش آمده است، طی ۶ ماه به بیمارستانهای تهران معرفی شده‌اند بااین ترتیب تعداد واقعی موارد کالاآزار باید خیلی بیش از ۱۲۰ موردی باشد که ازسال ۲۵۰۸ تاکنون در تمام ایران گزارش شده است. درتأیید این ادعا میتوان گفت اولا اکثر بیماران گزارش شده از نقاط دور افتاده و روستائی پس از مأیوس شدن از تشخیص و درمان پزشکان محلی که بعلت کم بودن موارد کالاآزار تجربه کافی در تشخیص این بیماری ندارند و یا امکانات تشخیص آزمایشگاهی در دسترس آنان نیست ، به بیمارستانهای مراکز استان و یا تهران مراجعه کرده‌اند و بعلت اینکه استقرار بیماری درکالاآزار مخفی وکند و معمولا بی تظاهرات حادصورت‌میگیرد، اصولا عده‌ای از بیماران بپزشك ویا بیمارستان مراجعه نمیکنند. ثانیاً تشخیص آزمایشگاهی ۱۲۰ مورد گزارش شده اغلب بر مبنای دیدن جسم لیشمن درگسترش تهیه شده از بزل مغزاستخوان بوده وبه‌نسبت کمتری بزل‌طحال وبافت‌برداری ازکبد انجام گرفته است. درصورتیکه در این بررسی ازسه‌بیمار که درآنان بزل‌مغزاستخوان انجام گرفته است فقط در یك مورد جسم لیشمن دیده شده است و از چهار بیمار در دو مورد روش سرولوژیائی ایمونوفلوئورسانس در تشخیص کالاآزار نقش اصلی را داشته است.

طبق تجارب شخصی دکتر ابوالحسن ندیم ، در کالاآزار نزد افرادبزرگسال درایران اغلب جسم لیشمن دربافت کم‌یافت‌میشود و نشانه‌های بالینی هم خفیف است.

در ۱۲۰ مورد گزارش شده سن بیش از ۷۵٪ بیماران کمتر از ۱۰ سال بوده‌است ، درصورتیکه درچهار مورد این بررسی سه تن از بیماران بیش از ۱۰ سال داشته‌اند.

درمان باترکیب آنتیموان پنج‌ظرفیتی (گلوکانتیم) بمقدارروزانه ۶۰ تا ۱۰۰ میلیگرم برای هر کیلوگرم وزن بدن بصورت محلول ۳۰٪ از راه تزریق داخل عضلانی بمدت ۱۰ تا ۱۵ روز درقطع تب، کوچك شدن طحال و بهبود وضع بیماران نتیجه خیلی خوب و سریع داشته است. با توجه بارزش منحصر بفرد ترکیبات پنج ظرفیتی آنتیموان در درمان اختصاصی کالا آزار و سالك توجه مقامات مسئول وزارت بهداری و بهزیستی را بفراهم کردن تسهیلات لازم جهت واردکردن این ترکیبات بمقدارکافی معطوف میدارد .

خلاصه :

در تشخیص آزمایشگاهی کالاآزار در چهار بیمار بستری شده در بیمارستانهای تهران از روشهائی که مورد استفاده قرارگرفت روش ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم با استفاده از پادگن تهیه شده از لیشمانیا دو نووانی بهترین نتیجه را در تشخیص بیماری نشان داد. عیار پادتن دراین بیماران $\frac{۱}{۱۰۲۴}$ تا $\frac{۱}{۱۶۳۸۴}$ بود. دردو تن از بیماران در یکی با تعداد خیلی کم جسم لیشمن که در آزمایش مجددانگل‌شناسی دیده‌شد ودر دیگری که درآزمایش‌های مکررانگل دیده نشد، روش ایمونوفلوئورسانس نقش اصلی‌را در تشخیص بیماری داشته است. ازنتایج این بررسی استنباط میشود که میزان شیوع وتعداد موارد بیماری کالاآزار در ایران خیلی بیش از مواردی بوده‌است که تاکنون با استفاده از روش انگل‌شناسی تشخیص داده شده است.

سپاسگذاری

از راهنمائی آقایان دکتر ابوالحسن ندیم ، دکتر علیرضا یلدا وهمکاری صمیمانه دکترحیدر امینی ، دکتر محمدحسینی ، دکتر جواد فیاض ، خانم پروین دارابیان و آقای قمت تحویلدار بیدرونی تشکر وقدردانی میشود .

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، ادریسیان- غ. ح. استفاده ازروش فلوئورسنت آنتی‌بادی در تشخیص سالك - مجله بهداشت ایران، سال چهارم، صفحه‌های ۱۳۹-۱۴۵ ، سال ۱۳۵۴.