

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 ثمر*** دکتر مهدی حقیقی**** دکتر ابوالحسن زوار*****

مقدمه:

کالا آزار يك بیماری عفونی است که عامل آن تك یاخنه تازک - داری بنام لیشمانیا دونووانی *L. donovani* و ناقل آن انواع بخصوصی از پشه خاکی از جنس *Phlebotomus* می باشد. انگل بشکل لیشمانیائی بدون تازک آزاد در سلولهای بیگانه خوار دستگاه رتیکیولو آندوتلیال میزبان مهره دار و بشکل لپتومونائی (تازک - 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 به شکل هندی، سودانی و مدیترانه ای با اختصاصات اپیدمیولوژیائی گوناگون شیوع دارد. مخزن انگل در شکل هندی خود انسان و در شکل سودانی انسان و احتمالاً جوندگان و در شکل مدیترانه ای گوشتخواران مانند سگ، روباه و شغال است.

در ایران نوع مدیترانه ای 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 خاکی هائی از گروه ماژور میباشد.

در کالا آزار استقرار بیماری معمولاً مخفیانه و با پیشرفت کند و از نشانه های آن تب های نامنظم، بزرگی طحال اغلب همراه با بزرگی کبد، کم خونی و ضعف عمومی است.

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

در کالا آزار معمولاً گلوبولین های 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، اگلوتیناسیون، هماگلوتیناسیون، پره سی تی 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، يك روش انتخابی است.

این روش برای نخستین بار در سال ۱۹۶۳ توسط Cascio و Oddo در لیشمانیوز مورد استفاده قرار گرفت و دانشمندان دیگر بتدریج آنرا برای تشخیص کالا آزار 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 ابن سینا دانشکده پزشکی رازی دانشگاه تهران.

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

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

روش بررسی، شرح حال و نتایج آزمایش هریک از بیماران:
در این بررسی از آزمون ایمونوفلورسانس غیر مستقیم طبق روشی که توسط زوین و ادریسیان در سال ۲۵۳۴ در مورد سالک بکار رفته است، بامصرف پادگن (آنتی ژن) تهیه شده از شکل لپتومونائی لیشمانیا دونوانی در محیط کشت و کشته شده آن بوسیله فرمل (۶) استفاده شده است و چهار بیمار با شرح حال زیر مورد بررسی قرار گرفته اند.

بیمار اول

الف. م. پسر بچه ۸ ساله، ساکن و متولد 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، درمعاينه ادنوپاتی لمس نشد، طحال يك سانتیمتر و کبد دو سانتیمتر زیر دنده ها قابل لمس بود.

بیمار بعلت داشتن تب بمدت طولانی و لاغری وضع عمومی ابتدا در یکی از بیمارستانهای آبادان وبعد در یکی از بیمارستانهای تهران بستری بوده است و در تاریخ 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 گرفته است، شرح زیر می باشد:

شمارش لکوسیت و فرمول لکوسیت، ۵۰۰۰ لکوسیت با ۵۱٪ نوتروفیل، ۵٪ منوسیت و ۴۴٪ لنفوسیت نشان داده است. تعداد رتیکولوسیت ۲٪ و هموگلوبین اغلب در حدود ۷ گرم درصد، همتوکریت ۲۴٪، سرعت رسوب گلوبولی همیشه بالای ۱۰۰، زمان انعقاد خون ۵ دقیقه و زمان 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 آل بومین دیده شد.

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

در بزل مغز استخوان فعال و سازنده و دارای سلولاریته طبیعی و نکته قابل توجه افزایش پلازما سل های رسیده و افزایش ذخیره آهن بوده است. در دوبار بزل مغز استخوان و يك بار بزل طحال و بافت برداری 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 ایمونوفلورسانس غیر مستقیم از نظر مالاریا و توکسوپلاسموز منفی بوده است. ولی از نظر لیشمانیوز با پادگن لیشمانیا دونوانی با عیار بالا $\frac{1}{16384}$ بطور قوی و آزمون فرمل ژل بطور متوسط (++) مثبت بوده است. الکتروفورز پروتئین سرم خون ۹/۵۲ گرم، پروتئین تام با ۲۶٪ آل بومین، ۴٪ آلفا يك گلوبولین، ۱۱/۴ درصد آلفا دو گلوبولین، ۱۴٪ بتا گلوبولین و ۴۴/۵٪ گاما گلوبولین نشان داده است.

در تمام مدت بستری شدن بیمار بطور نامنظم و گاهی متناوب تب میکرده و حرارت بدن او به ۴۰ درجه سانتیگراد هم میرسیده است. درمان با داروهای ضد سل و سایر درمان هائی که در بیمارستانهای مختلف در مورد این بیمار اجرا شده است، در قطع تب بی نتیجه بوده است.

اندازه طحال هنگام بستری شدن در بیمارستان قبلی طبیعی و غیر قابل لمس گزارش شده است و بعداً بتدریج بزرگ و میزان بزرگی آن پس از مدتی بستری بودن در بخش عفونی بیمارستان پهلوی به دو بند انگشت رسیده است.

با توجه به نتایج آزمایش های انجام شده بخصوص آزمایش ایمو- نوفلورسانس با پادگن لیشمانیا دونوانی و فرمل ژل والکترو- فورز چون نشانه ها و نکات مثبت بفع کالا آزار وجود داشت، با وجود اینکه در بزل و نمونه برداری احشاء جسم لیشمن دیده نشده بود، بیمار تحت درمان با ترکیب آنتیموان پنج ظرفیتی قرار گرفت. از روز سوم تب بیمار قطع شد و طحال کوچک و غیر قابل لمس گردید و کبد 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.

بیمار بعلت تب ولرز، لاغری مفرط، کم خونی و درد شدید ماهیچه ها و اندامها که از اوائل خرداد ۲۵۳۵ شروع شده است در تاریخ

۳۵/۶/۲ در بخش ایمونوهماتولوژی مرکز پزشکی آموزشی و درمانی سادت 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 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 زیر 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 سلولی خون تعداد گلبول قرمز ۲۵۰۰۰۰، گلبول سفید ۲۳۰۰، پلاکت ۱۲۰۰۰۰ در میلیمتر مکعب خون بوده است. فرمول لکوسیت ۵۶٪ نوتروفیل، ۴۳٪ لنفوسیت و ۱٪ ائوزینوفیل نشان داده است. تعداد رتیکولوسیت ۶٪، هموگلوبین ۶/۸ گرم و هماتوکریت ۲۰٪، سرعت رسوب گلبولی ساعت اول ۱۱۷ و ساعت 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 ایمونوفلورسانس نیز منفی بود.

نتایج آزمایش های رایت، ویدال، آزمون مانتو، تجسس سلول LE و آزمون «آنتی نوکلئار فاکتور» منفی بود. مقدار G6PD و میزان بیلیروبین خون طبیعی بود.

در الکتروفورز پروتئین سرم خون، مقدار پروتئین تام ۶/۷ گرم با ۴۰٪ آلبومین، ۲٪ آلفا یک گلوبولین، ۷٪ آلفا دو گلوبولین، ۲۴٪ بتا گلوبولین و ۲۷٪ گاما گلوبولین بود و در ایمونوالکتروفورز میزان IgG افزایش نشان داده است.

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

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

چون آزمایش ایمونوفلورسانس از نظر کالا آزار با عیار ۱/۲۴ و آزمون فرمل ژل بطور متوسط (++) مثبت بود، مجدداً بزل مغز استخوان انجام گرفت و در گسترش های تهیه شده

پس از 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 سر بازی را در عمان گذرانده و پس از اتمام خدمت سر بازی سال گذشته جهت ادامه تحصیل به هندوستان رفته و در شهر بنگالور مشغول تحصیل در رشته مهندسی بوده است. در تعطیلات زمستانی بتهران باز میگردد و بعلت بی اشتها، تب و عرق که از دو ماه قبل از مراجعت ظاهر شده است و همچنین احساس سنگینی در ناحیه زیر دنده چپ بدن در تاریخ ۳۵/۹/۱۷ به بخش خون بیمارستان دکتر اقبال، دانشکده پزشکی پهلوی مراجعه می کند و بستری میگردد. بیمار لاغر اندام و با وزن ۶۰ کیلو گرم است سابقه بیماری مهمی را در خانواده ذکر نمیکند.

حالت عمومی 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 کناره داخلی 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 قهوه ای رنگی بابعاد ۱/۵ × ۱/۵ سانتیمتر وجود داشت که از آن بافت برداری بعمل آمد.

آزمایش های انجام شده:

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

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

در آزمایش ادرار ترانس آلبومین دیده شد.

آزمون های کازونی و تویر کولین درون پوست منفی بوده است. الکتروفورز پروتئین سرم خون ۷/۰۶ گرم پروتئین تام با ۲۹/۷٪ آلبومین، ۶/۲٪ آلفا یک گلوبولین، ۱۱/۶٪ آلفا دو گلوبولین، ۹/۴٪ بتا گلوبولین و ۴۳/۱٪ گاما گلوبولین نشان داد. در بزل طحال تعداد زیاد جسم لیشمن داخل و خارج سلولی دیده شد ولی در بزل پونکسیون مغز استخوان انگل دیده نشد.

آزمون ایمونوفلوئورسانس غیرمستقیم که تقریباً همزمان با بزل طحال انجام گرفت با پادگن لیشمانیا دونووانی باعیار بالا ($\frac{1}{16384}$) بطور قوی و آزمون فرمل ژل نیز بطور قوی (+ + + +) مثبت بوده است. در آزمایش میکرسکوپی برش تهیه شده از بیوپسی پاپول موجود در ساق پای بیمار که در بخش هیستوپاتولوژی انستیتو تساج پهلوی انجام گرفت مشاهده شد که اپیدرم کاملاً نازک و آتروفیک است و در درم ارتشاح شدید سلولهای هیستوسیتیک تک هسته و بندرت چند هسته‌ای 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، سابقه‌ای از بیماری مسری در خانواده ذکر نمیکند.

بیمار از یک سال و نیم 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 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 بسؤالات جواب میدهد. رنگ پوست و مخاطها طبیعی است.

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

نتایج آزمایش‌های انجام شده :

در شمارش گلبولی و فرمول نکوتیتر تعداد گلبول قرمز ۳۱۰۰۰۰، لکوسیت ۴۴۰۰ با ۲۶٪ نوتروفیل، ۱٪ ائوزینوفیل، ۹٪ منوسیت و ۴۴٪ لنفوسیت است. سدیما تناسیون ساعت اول ۲۸ و ساعت دوم ۵۹، هموگلوبین ۸/۳ گرم و همتوکریت 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

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، ۱۷٪ 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 ایمونوفلوئورسانس غیرمستقیم با پادگن لیشمانیا دونووانی با عیار ($\frac{1}{1024}$) 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 وخیمی 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 ۳۷/۰ درجه و گاهی حداکثر یک درجه بوده و بعضی اوقات هم چند عشر ضعف نشان میداده است. بنابراین مشاهده می‌شود که تشخیص قطعی بر مبنای نشانه‌های بالینی مشکل است و با کمک یافته‌های پیرا-بالینی می‌توان به تشخیص قطعی رسید.

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

كالا آزار با عيار $\frac{1}{100}$ سبب شد بزل مجدد مغز استخوان انجام گيرد و در آزمون ميكروسكپي دقيق گسترش تهيه شده از ماده حاصل از بزل جسم ليشمن بعداد خيلي كم ديده شود. در بيمار سوم كه در بزل طحال و بيمار چهارم كه در بافت برداري از كبـد تعداد زياد جسم ليشمن ديده شده بود، آزمون ايمونوفلوئورسانس با پادگن ليشمانيا دونواني نيز بترتيب با عيارهاي $\frac{1}{100}$ و $\frac{1}{1000}$ مثبت بوده است.

بيمارانيكه جهت آزمون سرولوژيائي از نظر كالا آزار با زمائشگاه تك ياخته هاي خون و بافت دانشكده بهداشت معرفي شده اند و نتيجه آزمون ايمونوفلوئورسانس نمونه خون آنان با پادگن ليشمانيا- دونواني منفي و يا پادتن با عيار كم ديده شده است، نتايج ساير روشهاي تشخيصي نيز منفي بوده است و وجود كالا آزار در آنان ثابت نشده است.

در آزمون ايمونوفلوئورسانس واكنش مشابه بين انواع ليشمانيوزا از جمله سالك با پادگن ليشمانيا دونواني وجود دارد (۶). معمولاً در اين مورد نشانه هاي باليني وساير روشهاي تشخيص آزمونيشگاهي ومختصري اطلاعات اپيدميولوژيائي تشخيص افتراقي را آسان ميكنند.

در بيماران مالاريايي نيز گاهي واكنش مشابه با پادگن ليشمانيا دونواني ديده ميشود. عيار پادتن در اين موارد معمولاً كمتر از $\frac{1}{100}$ است (۶).

حداقل عيار پادتن براي تشخيص سرولوژيائي كالا آزار با روش ايمونوفلوئورسانس $\frac{1}{100}$ پيشهاد شده است (۴). با توجه باينكه اين حداقل عيار بستگي به بيماريهاي عفوني شايع در محل زندگي بيمار وماهيت و ارزش پادگن تهيه شده وسرم كنز وگه، كه مصرف شده وشرايط آزمون دارد، لازم است هر آزمونيشگاه ضمن اعلام نتيجه حدود حداقل عيار را تعيين نمايد. در آزمونيشگاه تك ياخته هاي خون و بافت دانشكده بهداشت وانستيتوي تحقيقات بهداشتي تعيين حداقل عيار براي تشخيص كالا آزار تحت بررسي است. گرچه آزمون هاي عقدماتي ظاهرآ اين حداقل عيار را ۲۵۶ نشان ميدهد، با توجه به نشانه هاي باليني بيماري و نتايج ساير روشهاي تشخيص آزمونيشگاهي وسابقه بيمار از نظر ابتلا به بعضي از بيماريهاي عفوني ارزش اين ميزان حداقل قابل تفسير است. يكي ديگر از بيماريهاي كه مانند كالا آزار با پادگن ليشمانيا دونواني واكنش مشابه نشان ميدهد، بيماري شاگاس است. در مناطقي كه بيماري شاگاس وجود دارد لازم است قبل پادتن هاي مربوط به بيماري شاگاس موجود در سرم بيمار با پادگن تريپا-

انگل بحدي كم است كه در آزمون گسترش و يا برش تهيه شده از ماده حاصل از بزل و يا بيوپسي جسم ليشمن ديده نميشود. در چنين موارد معمولاً انگل در محيط كشت هم رشد و تكثير پيدا نميكنند. تلقيح به هاستر ممكن است سبب رشد و تكثير انگل گردد ولي طولاني بودن مدتيكه براي تكثير انگل در حيوان لازم است (در حدود يك ماه) استفاده از اين روش را محدود ميكند. در اين بررسي نزد بيمار اول در بزل مغز استخوان كه دوبار انجام گرفته است و همچنين در بزل طحال و بافت برداري از كبـد، با وجود دقت زياد در جستجوي انگل، جسم ليشمن ديده نشد. در بيمار دوم تعداد جسم ليشمن در مغز استخوان بحدي كم بود كه در بزل اول ديده نشد. پس از آزمون سرولوژيائي بروش ايمونوفلوئورسانس از نظر كالا آزار و مثبت بودن اين آزمون مجدداً بزل مغز استخوان بعمل آمد و در گسترش هاي تهيه شده پس از آزمون طولاني ودقيق ميكروسكپي تعداد خيلي كم جسم ليشمن ديده شد.

در بيمار سوم در بزل مغز استخوان انگل ديده نشد ولي در بزل طحال و برش تهيه شده از پاپول موجود روي پوست ساق پاى بيمار تعداد زيادي جسم ليشمن مشاهده گرديد.

در بيمار چهارم كه مشكوك به سروز كبـد بوده است و از ابتدا بافت برداري از كبـد بعمل آمده است، تعداد زيادي جسم ليشمن در برش تهيه شده از بافت كبـد ديده شده است.

آزمون غير اختصاصي فرمل ژل و الكتروفورز پروتئين هاي سرم خون اغلب راهنماي خوبي براي تشخيص هستند ولي اين آزمون ها معمولاً فقط در مراحل پيشرفته بيماري به تشخيص كمك ميكنند. در اين بررسي آزمون فرمل ژل در تمام چهار مورد بطور متوسط (++) و يا به طور قوي (++++) مثبت بوده و بين ميزان مثبت بودن اين آزمون وتعداد انگل كم و بيش نسبت مستقيم وجود داشته است.

در الكتروفورز پروتئين هاي سرم خون تمام بيماران افزايش گلوبولين ها وبخصوص افزايش قابل ملاحظه گاما گلوبولين ديده ميشود. روش سرولوژيائي اختصاصي ايمونوفلوئورسانس با پادگن ليشمانيا دونواني در اين بررسي بهترين نتيجه را در تشخيص بيماري كالا آزار نشان ميدهد. چنانچه در بيمار اول كه در سه بار آزمون عيار پادتن در حدود $\frac{1}{1000}$ بوده است نتيجه اين آزمون به تنهائي سبب تشخيص كالا آزار شد و پس از درمان با تريكب آنتيموان، تب بيمار قطع شد و طحال او بتدريج كوچك وغير قابل لمس گرديد. در بيمار دوم نيز مثبت بودن آزمون ايمونوفلوئورسانس از تـلـر

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

درمان با ترکیب آنتیمران پنج ظرفیتی (گلوکانتیم) بمقدار روزانه ۰.۶ تا ۱.۰ میلیگرم 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 بارز منحصرفرد ترکیبات پنج ظرفیتی آنتیمران در درمان اختصاصی کالا آزار و سالک توجه مقامات مسئول وزارت بهداشت و بهیستی را بفراهم 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 ايمونوفلوئوروسانس غير مستقيم با استفاده از پادگن تهیه شده از لیشمانیا دو نووانی بهترین نتیجه را در تشخيص بیماری نشان داد. عیار پادتن در این بیماران $\frac{1}{1024}$ تا $\frac{1}{6384}$ بود. در دو تن از بیماران در یکی با تعداد خیلی کم جسم لیشمن که در آزمایش مجدداً انگل شناسی دیده شد و در دیگری که در آزمایشهای مکرر انگل دیده نشد، روش ايمونوفلوئوروسانس 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 انگل شناسی تشخيص داده شده است.

سپاسگذاری

از راهنمایی آقایان دکتر ابوالحسن ندیم، دکتر علیرضا یلدا و همکاری صمیمانه دکتر حمید ائینی، دکتر محمد حسینی، دکتر جواد فیاض، خانم پروین دارابیان و آقای قنمت تحویلدار بیدرونی تشکر و قدردانی میشود.

نوزوم کروزى جذب گردد (۱).

بطور کلی میتوان گفت در صورتیکه تسهیلات وامكانات لازم جهت اجرای آزمون ايمونوفلوئوروسانس 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 تا کنون در تمام ایران گزارش شده است. در تأیید این ادعا میتوان گفت اولاً اکثر بیماران گزارش شده از نقیصه دور افتاده و روستائی پس از مایوس شدن از تشخيص و درمان پزشکان محلی که بعلمت 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 بعلمت اینکه استقرار بیماری در کالا آزار مخفی و کند و معمولاً بی تظاهرات حاد صورت میگیرد، اصولاً عده ای از بیماران پزشک و یا بیمارستان مراجعه نمیکند. ثانیاً تشخيص آزمایشگاهی ۱۲۰ مورد گزارش شده اغلب بر مبنای دیدن جسم لیشمن 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 لیشمن دیده شده است و از چهار بیمار در دو مورد روش سرولوژیائی ايمونوفلوئوروسانس 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 لیشمن در بافت کم یافت میشود و نشانه های 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- ذوین- ذ، ادريسيان- غ. ح. استفاده از روش فلوئوروسنت آنتی بادی در تشخيص سالک - مجله بهداشت ایران، سال چهارم، صفحه های ۱۳۹-۱۴۵، سال ۱۳۵۴.