

ایمونوفلورسانس 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 ادريسیان* دکتر اسکندر اخوان** دکتر گیتی نمر*** دکتر ابوالحسن زوار****

در کالا آزار استقرار بیماری معمولاً مخفیانه و با پیشافت کند واز نشانه‌های آن تب‌های نامنظم، بزرگی طحال اغلب همراه با بزرگی کبد، کم خونی و ضعف عمومی است.

ممولاً تشخیص قطعی بیماری با دیدن جسم لیشممن در آزمایش میکروسکوپی گسترش تهیه شده از بزل طحال، کبد، مغز استخوان و گاهی عدد لنفاوی و رنگ شده بایکی از روش‌های رومانفسکی مانند گیمسا، رایت و یالیشممن انجام می‌گیرد. در مواردیکه تعداد انگل کم باشد برای تکثیر از روش‌های کشت در محیط ژلوزخون- دارمخصوص (محیط N.N.N) وتلیقیج بحیوان حساس آزمایشگاهی (هاستر) استفاده می‌شود.

در کالا آزار معمولاً گلوبولین‌های سرم خون بخصوص گاما گلوبولین افزایش می‌باید. بنابراین از الکتروفورز سرم خون بیماران و آزمون غیر اختصاصی فرمل ژل که این افزایش را نشان میدهد بعنوان روش‌های هدایت کننده میتوان استفاده کرد. روش‌های سرولوژیائی فیکسایون کمپلمان، اگلوتیناسیون، هما گلوتیناسیون، پره سی‌تی‌اسایون، ایمونوفلورسانس و اخیراً آزمون جدید آنزیمی الیزا (ELISA) (۵) در تشخیص کالا آزار بکار رفته است. یعنی روش‌های ذکر شده در حال حاضر روش غیر مستقیم ایمونوفلورسانس در آزمایشگاههایی که امکان اجرای این آزمون فراهم باشد، یک روش انتخابی است.

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

مقدمه :

کالا آزار یک بیماری عفونی است که عامل آن تک یاخته تازه - داری بنام لیشمانا دونووانی *L. donovani* و ناقل آن انواع بخصوصی از پشه خاکی از جنس *Phlebotomus* می‌باشد. انگل بشکل لیشمانیائی بدون تازه‌آزاد در سلولهای ییگانه خواردستگاه ریکولو آندوتیال میزبان مهره دار و بشکل لپتومونائی (تازه‌دار) در میزبان بی‌مهره (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 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 گوشتخواران مانند سگ، روباء 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 روتاستائی نیمه گرمسیر و کوهستانی جنوب غربی ایران پیشتر بوده است.

در ایران جسم لیشممن در احشاء سگ و اخیراً در روباء و شغال گزارش شده است (۳). ناقل بیماری با احتمال قوی پشه‌خاکی‌هایی از گروه مأمور می‌باشد.

* دانشکده بهداشت و انتیتویی تحقیقات بهداشتی دانشگاه تهران.

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

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

**** بیمارستان این‌سینا دانشکده پزشکی رازی دانشگاه تهران.

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

در بزل مغز استخوان فمال و سازنده و دارای سلوکاریته طبیعی و نکته قابل توجه افزایش پلاسماسل های رسیده و افزایش ذخیره آهن بوده است. در دوبار بزل مغز استخوان و یک 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 سرولوژیایی خون بر روی ایمونوفلورسانس غیرمستقیم از نظر مالاریا و توکسوپلاسموز منفی بوده است. ولی از نظر لیشمانیوز با پادگن لیشمانیا دونووانی با عیار بالا^{۱۶۲۸۴} بطور قوی و آزمون فرمل ۷ل بطور متوسط (++) مثبت بوده است. الکتروفورز پروتئین سرم خون ۹/۵۲ گرم، پروتئین تام با ۲۶٪ آلبومین، ۴٪ آلفا یک 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 هایی که در بیمارستان های مختلف درمورد این بیمار اجرا شده است، در قطع تب بی شیجه بوده است.

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

با توجه به نتایج آزمایش های انجام شده بخصوص آزمایش ایمونوفلورسانس با پادگن لیشمانیا دونووانی و فرمل ۷ل والکتروفورز چون نشانها و نکات مثبت بنفع کالا آزار وجود داشت، با وجود اینکه در بزل و نمونه برداری احتشاء 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 غیرقابل لمس گردید و کبد هم کوچکتر شد.

بیمار دو

ع. خ. مرد ۲۰ ساله، متولد وساکن ساری، محصل. طبق اظهارات بیمار مادر او بعلت بیماری کبد فوت کرده است. در سایر افراد خانواده سابقه بیماری مهمی وجود نداشته است. بیمار بعلت تب ولرز، لاغری مفترط، کم خونی و درد شدید ماهیچه ها و اندامها که از اوائل خرداد ۲۵۳۵ شروع شده است در تاریخ

منظور از این مطالعه بکار بردن روش ایمونوفلورسانس در تشخیص لیشمانیوز احتشائی 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 غیرمستقیم طبق، وشی که توسط زوین و ادريسیان در سال ۲۵۳۴ در مورد سالک بکار رفته است، با مصرف پادگن (آنتی زن) تهیه شده از شکل پیتومونائی لیشمانیا دونووانی در محیط کشت و کشته شده آن بواسیله 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، مختصه کم خون و ضعیف، وزن ۱۹ کیلوگرم، حرارت بدن ۳۸/۷ درجه سانتیگراد، سابقه ترانسفوزیون ندارد، در معاینه ادنوپاتی لمس نشد، طحال یک سانتیمتر و کبد دو سانتیمتر زیر دندنه ها قابل لمس بود.

بیمار بعلت داشتن تب بمدت طولانی و لاغری وضعف عمومی ابتدا در یکی از بیمارستان های آبادان و بعد در یکی از بیمارستان های تهران بستری بوده است و در تاریخ ۳۵/۶/۳۰ به بخش غفونی بیمارستان پهلوی، دانشگاه تهران معرفی و بستری شده است. نتایج اقداماتی که در بیمارستان قبلی و در بخش غفونی بیمارستان پهلوی جهت تشخیص و درمان بیمار انجام گرفته است، بشرح زیر می باشد:

شمارش لکوسیت و فرمول لکوسیتر، ۵۰۰۰ لکوسیت با ۵۱٪ نوتروفیل، ۵٪ منوسیت و ۴۴٪ لنفوسیت نشان داده است. تعداد رتیکولوسیت ۲٪ و همو گلوبولین اغلب در حدود ۷ گرم درصد، هماتو کریت ۲۴٪، سرعت رسوب گلوبولی همیشه بالای ۱۰۰، زمان انقاقدخون ۵ دقیقه و زمان پرتو و میان ۱۳ تا ۱۰۰ ثانیه (۱۰۰٪) بوده است.

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

در آزمایش ادرار تراس آلبومین دیده شد.

BSP پس از ۴۵ دقیقه ۱۵٪، مقدار بیلیر وین تام ۲ و مستقیم آن ۱۶۰ میلیگرم درصد، SGPT ۳۰ و SGOT ۳۵ واحد، مقدار الکالن فسفاتاز یک بار ۷/۸ و بار دیگر ۱۸ واحد کینگ بوده است.

پس از آزمایش دقیق میکروسکپی بمدت طولانی تعداد خیلی کم جسم لیشمین 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 مخصوص گردید.

بیمارسوم:

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 در شهر بنگالور مشغول تحصیل در رشته مهندسی بوده است. در تطبیقات زمستانی بتهران باز میگردد و بعلت بی اشتهاقی، تب و عرق که از دو ماه قبل از مراجعت ظاهر شده است و همچنین احساس سنگینی در ناحیه زیر دندنه طرف چپ بدن در تاریخ ۳۵/۹/۱۷ به بخش خون بیمارستان دکتر اقبال، دانشکده پزشکی پهلوی مراجعه می‌کند و بستری میگردد.

بیمار لاغر اندام و با وزن ۶۰ کیلو گرم است سابقه بیماری‌هایی را در خانواده ذکر نمیکند.

حالات عمومی نسبتاً خوب و درجه حرارت بدن ۳۸ درجه سانتیگراد بود و اغلب شبهای بیمار دچار تب می‌شد. در لمس شکم کبد بزرگ، طحال خیلی بزرگ و کثارت داخلی ناحدیده وسط و لبه تختانی 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 با بعاد ۱۵×۱۵ سانتیمتر وجود داشت که از آن بافت برداری بعمل آمد.

آزمایش‌های انجام شده:

شمارش و فرمول لکوسیت ۱۶۰۰۰ عدد لکوسیت با ۲۷٪ نوتروفیل، ۲۷٪ منوست و ۴۶٪ لنفوست نشان داده است.

تعداد پلاکت ۱۰۰۰۰۰، مقدار هموگلوبین ۹ گرم درصد، هماتوکریت ۲۷٪، سرعت رسوب گلوبولی در ساعت اول ۸،۵٪، زمان پروترومین ۱۵ ثانیه (شاده ۱۳ ثانیه)، زمان سیلان ۴/۵ دقیقه، SGOT و SGPT ۲۲ واحد بود.

در آزمایش ادرار تراس آلبومین دیده شد.

آزمون‌های کازونی و تویر کولین درون پوست منفی بوده است. الکتروفورز پروتئین سرم خون ۷۰/۶ گرم پروتئین تام با ۲۹٪ آلبومین، ۶٪ بتاگلوبولین و ۱۶٪ کاماگلوبولین نشان داد. در بزل طحال تعداد زیاد جسم لیشمین داخل و خارج سلولی دیده شد ولی در بزل پونکسیون مغز استخوان انگل دیده نشد.

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 شبهای به ۴۱ درجه سانتیگراد می‌رسیده است. بچند نفر از پزشکان شهرستانهای شمالی مراجعت کرده و تحت درمان بیماری‌هایی از قبل تقویت و تب مالت قرار گرفته است.

در معاينه بیمار ضعیف، بیحال، کم خون، مخاطها رنگ پریده و دچارت‌کیکاری بود. در معاينه شکم طحال بزرگ و نرم و چهار بند انگشت زیر دندنهای 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 نمیشود.

نتایج آزمایش‌های انجام شده:

در شمارش عناصر سلولی خون تعداد گلوبول قرمز ۲۵۰۰۰۰، گلوبول سفید ۲۳۰۰، پلاکت ۱۲۰۰۰ در میلیمتر مکعب خون بوده است. فرمول لکوسیت ۵۶٪ نوتروفیل، ۴۳٪ لنفوست و ۱۶٪ اوزینوفیل نشان داده است. تعداد رتیکولاویت ۶٪، هموگلوبین ۶/۸ گرم و هماتوکریت ۲۰٪، سرعت رسوب گلوبولی ساعت اول ۱۱۷ و ساعت دوم ۱۴۰ بوده است. نتیجه آزمایش میکروسکپی خون از تظر مalaria و کشت خون که بطور مکرر انجام گرفته است منفی و نتیجه آزمایش سرولوژیائی مalaria با روش ایمونو نو فلورسانس نیز منفی بود.

نتایج آزمایش‌های رایت، ویدال، آزمون مانتو، تعسیس سلول LE و آزمون «آنتی نوکلئی فاکتور» منفی بود. مقدار G6PD و میزان پیلر وین 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٪ بتاگلوبولین و ۲۷٪ کاماگلوبولین بود و در ایمونو الکتروفورز 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 لیشمین دیده نشد.

چون آزمایش ایمو نو فلورسانس از نظر کالا آزار باعیار ۱۰/۴ و آزمون فرمل ۷ لیتر متوسط (+) مثبت بود، مجدداً بزل مغز استخوان انجام گرفت و در گسترش‌های تهیه شده

دقیقه ۱۸٪ و بعداز ۴۵ دقیقه ٪، زمان پرور و مبین ۱۱ ثانیه (۸۲٪)، الکتروفورز پروتئین سرم خون ۱۱/۸ گرم پروتئین تام با ۲۲٪ آلبومین، ۱۷٪ آلفا یک گلوبولین، ۳/۴٪ آلفادو گلوبولین، ۸/۸٪ بتا گلوبولین و ۶۶٪ گاما گلوبولین بوده است. سه هفته بعد از بستری شدن بافت برداری از کبد انجام گرفت. بعداز بافت برداری بیمار سه روز تب کرده است در حالیکه قبل از آن درجه حرارت بدن بیمار گاهی حداقل بـ ۳۸ درجه سانتیگراد میرسیده و گاهی هم کمتر از ۳۷ درجه بوده است.

در بررسی های تهیه شده از نمونه بافت کبد، تعداد زیاد اجسام لیشمن درون سلولهای فاگوستیک دیده شد. آزمایش ایمونوفلورسانس غیر مستقیم با پادگن لیشمانیا دونووانی با عیار (۱/۰۴) و آزمون فرمول ۷ نیز بطور قوی (+++) مثبت بوده است. بیمار تحت درمان با ترکیب پنج ظرفی 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 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 روش های تشخیص آزمایشگاهی و درمانهای کمکی و مواظبت از بیمار بیزمان خیلی کمتری تقلیل می دهد. با توجه بارقام فوق اهیت روش های تشخیص بیماری بخوبی روشن میگردد. نشانه های 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 روش های تشخیص آزمایشگاهی، پزشک بفکر کالا آزار میافتد. عموما برای تشخیص نهائی، همکاری مؤسسات پزشکی و بهداشتی و آزمایشگاهی مجهز تحت نظر مسئولین با توجه به ضرور است. در این بررسی در بیمار اول با وجود داشتن تب بمدت طولانی و در حدود ۶ ماه، بیمار همیشه خوب و سرحال و بزرگی طحال و کبد او خفیف و در ابتدای بیماری تا حدی غیرقابل لمس بود. در بیمار چهارم حرارت بدن بیمار تقریباً طبیعی و در حدود ۷٪ درجه و گاهی حداقل یک درجه بوده و بعضی اوقات هم چند عذر ضعف نشان میداده است. بنابراین مشاهده می شود که تشخیص قطعی بر مبنای نشانه های بالینی مشکل است و با کمک یافته های پیرا- بالینی می توان به تشخیص قطعی رسید.

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

آزمون ایمونو فلورسانس غیر مستقیم که تقریباً همزمان با بزل طحال انجام گرفت با پادگن لیشمانیا دونووانی با عیار بالا (۱/۶۳۸۴) بطور قوی و آزمون فرمول ۷ نیز بطور قوی (+++) مثبت بوده است. در آزمایش میکروسکوپی برش تهیه شده از بیوپسی پاپول موجود در ساق پا بیمار که در بخش هیستوپاتولوژی انتیتو ساج پهلوی انجام گرفت مشاهده شد که اپیدرم کامل نازک و آترووفیک است و در درم ارتراح شدید سلولهای هیستوبویتیک تک هسته و بندرت چند هسته ای حاوی تعداد زیاد جسم لیشمن وجود دارد.

بیمار تحت درمان با ترکیب آنتیموان ۵ ظرفی 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 روستا دامغان، شغل محصل. تابستان ها همراه گله بصرحا میرفته است. پدر بیمار بعلت نامعلوم فوت کرده، ساقه ای از بیماری مسری در خانواده ذکر نمیکند.

بیمار از یک سال و نیم قبل توهه ای در زیر دندنهای چپ احساس کرده و شکم او بتدریج متورم شده است. برای معالجه چندبار بتهرا ن آمده است و با معرفی یکی از پزشکان تحت عنوان بیمار مبتلا به سیروز در تاریخ ۲۵/۵/۴ 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 دستگاه های 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 سانتیمتر پائین آمده است. کبد نیز بزرگ و پنج سانتیمتر زیر دندنه قابل لمس است. ادنو پاتی ندارد.

نتایج آزمایش های انجام شده:

در شمارش گلوبولی و فرمول نکو-سیتر تعداد گلوبول قرمز ۳۱۰۰۰، لکوسیت ۴۴۰۰ با ۲۶٪ نوتروفیل، ۱٪ اوزینوفیل، ۹٪ منوسیت و ۶۴٪ لنفوسیت است. سدیما تاتاسیون ساعت اول ۲۸ و ساعت دوم ۵۹، همو گلوبولین ۸/۳ گرم و هماتوکریت ۲۶ درصد است. نتیجه آزمایش خون از نظر مالاریا و آزمون مانتو منفی بوده است. SGPT ۱۱۵ و SGOT ۹۶ واحد، بیلر وین تام ٪۷ آزمون تیمول ۴ واحد بودانسکی بوده است. BSP بعد از ۱۵

کلا آزار با عیارهای ^{۱۰۴۴} سبب شد بزل مجدد مغز استخوان انجام گیرد و در آزمایش میکروسکوپی دقیق گسترش تهیه شده از ماده حاصل از بزل جسم لیشمن بتمدد 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 ایمونوفلورسانس با پادگن لیشمانیا دونووانی نیز بترتیب با عیارهای ^{۱۶۳۸۴} و ^{۱۰۴۴} مثبت بوده است.

بیمارانیکدهجهت آزمایش سرولوژیائی از نظر کلا آزار با آزمایشگاه تک یاخته‌های خون و بافت دانشکده بهداشت معرفی شده‌اند و تیجه آزمایش ایمونوفلورسانس نمونه‌خون آنان با پادگن لیشمانیا دونووانی منفی و یا پادتن با عیار کم دیده شده است، تتابع سایر روش‌های تشخیصی نیز منفی بوده است و وجود کلا آزار در آنان ثابت نشده است.

در آزمایش ایمونوفلورسانس و اکتش مشابه بین انواع لیشمانیوز از جمله سالک با پادگن لیشمانیا دونووانی وجود دارد (۶). معمولاً در این مورد نشانه‌های بالینی و سایر روش‌های تشخیص آزمایشگاهی و مختصری اطلاعات اپیدمیولوژیائی تشخیص افرادی را آسان میکند.

در بیماران مalariae نیز گاهی واکنش مشابه با پادگن لیشمانیا دونووانی دیده میشود. عیار پادتن در این موارد معمولاً کمتر از ^{۱۰۴۴} است (۶).

حداقل عیار پادتن برای تشخیص سرولوژیائی کلا آزار با روش ایمونوفلورسانس ^{۱۰۴۴} پیشنهاد شده است (۴). با توجه بینکه این حداقل عیار بستگی به بیماری‌های عفونی شایع در محل زندگی بیمار و ماهیت وارزش پادگن تهیه شده و سرم «کنزوگه» که مصرف شده و شرایط آزمایش دارد، لازم است هر آزمایشگاه ضمن اعلام تیجه حدود حداقل عیار را تعیین نماید. در آزمایشگاه تک یاخته‌های خون و بافت دانشکده بهداشت و استینتوی تحقیقات بهداشتی تعیین حداقل عیار برای تشخیص کلا آزار تحت بررسی است. گرچه آزمایش‌های عقدماتی ظاهر آین حداقل عیار را ^{۲۵۶} نشان میدهد، با توجه به نشانه‌های بالینی بیماری و تتابع سایر روش‌های تشخیص آزمایشگاهی و سابقه بیمار از قتلر ابتلا به بعضی از بیماری‌های عفونی ارزش این میزان حداقل قابل تفسیر است. یکی دیگر از بیماری‌هایی که مانند کلا آزار با پادگن لیشمانیا دونووانی واکنش مشابه نشان میدهد، بیماری شاگاس است. در مناطقی که بیماری شاگاس وجود دارد لازم است قبل از پادتن های مربوط به بیماری شاگاس موجود در سرم بیمار با پادگن ترپیا-

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. 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 مدتیکه 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 بحدی کم بود که در بزل اول دیده نشد. پس از آزمایش سرولوژیائی بروش ایمونوفلورسانس از نظر کلا آزار و مثبت بودن این آزمون مجدداً بزل مغز استخوان بعمل آمد و در گسترش‌های تهیه شده پس از آزمایش طولانی و دقیق 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 مشکوک به سیرورز 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 فرمیلzel و الکتروفورز پروتئین‌های سرم خون اغلب راهنمای خوبی برای تشخیص هستند ولی این آزمایش‌ها معمولاً فقط در مراحل پیشرفت بیماری به تشخیص کمک میکنند. در این بررسی آزمون فرمیلzel 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 سرولوژیائی اختصاصی ایمونوفلورسانس با پادگن لیشمانیا دونووانی در این بررسی بهترین نتیجه را در تشخیص بیماری کلا آزار نشان میدهد. چنانچه در بیمار اول که در سه بار آزمایش عیار پادتن در حدود ^{۱۶۳۸۴} بوده است نتیجه این آزمون به تنهایی سبب تشخیص کلا آزار شد و پس از درمان با تکب آتمومن، تب بیمار قطع شد و طحال او بتدریج کوچک و غیرقابل لمس گردید. در بیمار دوم نیز مثبت بودن آزمون ایمونوفلورسانس از قتلر

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

درمان با ترکیب آنتیمران پنج ظرفی (گلوکانتیم) بمقدار روزانه ۶۰ تا ۱۰۰ میگرم برای هر کیلوگرم وزن بدن بصورت محلول ۳۰٪ از راه تزریق داخل عضلانی بمدت ۱۰ تا ۱۵ روز درقطعه تب، کوچک شدن طحال و بهبود وضع بیماران نتیجه خیلی خوب و سریع داشته است. با توجه بارزش منحصر بفرد ترکیبات پنج ظرفی آنتیمران در درمان اختصاصی کلا آزار و سالک توجه مقامات مسئول وزارت بهداشت و بهزیستی را بفرامند کردن تسهیلات لازم جهت وارد کردن این ترکیبات بمقدار کافی معطوف میدارد.

خلاصه :

در تشخیص آزمایشگاهی کلا آزار در چهار بیمار بستری شده در بیمارستانهای تهران از روشهایی که مورد استفاده قرار گرفت روش ایمو نوفلورسانس غیر مستقیم با استفاده از پادگن تهیه شده از لیشمانا دو نووانی بهترین نتیجه را در تشخیص بیماری نشان داد. عبارت از در این بیماران $\frac{1}{10284}$ تا $\frac{1}{1044}$ بود. در دو تن از بیماران در یکی با تعداد خیلی کم جسم لیشمن که در آزمایش مجدد انگل شناسی دیده شد و در دیگری که در آزمایش‌های مکرر انگل دیده نشد، روش ایمو نوفلورسانس نقش اصلی را در تشخیص بیماری داشته است. از نتایج این بررسی استنباط می‌شود که میزان شیوع و تعداد موارد بیماری کلا آزار در ایران خیلی بیش از مواردی بوده است که تاکنون با استفاده از روش انگل-شناسی تشخیص داده شده است.

سپاسگذاری

از راهنمایی آقایان دکتر ابوالحسن ندیم، دکتر علیرضا یلدرا و همکاری صمیمانه دکتر حیدر امینی، دکتر محمد حسینی، دکتر جواد فیاض، خانم پروین داراییان و آفای قمت تحویلدار یدروني تشكير وقدردانی می‌شود.

نوزوم کروزی جذب گردد (۱).

بطور کلی میتوان گفت در صورتیکه تهیلات و امکانات لازم جهت اجرای آزمون ایمو نوفلورسانس فراهم باشد این آزمون در تشخیص کلا آزار یک روش با ارزش و عملی و در حال حاضر یک روش انتخابی است.

چهار بیمار کلا آزاری که شرح حال آنان در این گزارش آمده است، طی ۶ماه به بیمارستانهای تهران معرفی شده‌اند با این ترتیب تعداد واقعی موارد کلا آزار باید خیلی بیش از ۲۰۰ 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 نقاط دور اقصاده و روستایی پس از مأیوس شدن از تشخیص و درمان پیشکان محلی که بعلت کم بودن موارد کلا آزار تجربه کافی در تشخیص این بیماری ندارند و یا امکانات تشخیص آزمایشگاهی در دسترس آنان نیست، به بیمارستانهای مرکز استان و یا تهران مراجعه کرده‌اند و بعلت اینکه استقرار بیماری در کلا آزار مخفی و کند و عمولاً بی تظاهرات حاصله از میگیرد، اصولاً عده‌ای از بیماران پیشک و یا بیمارستان مراجعت نمی‌کنند. ثانياً تشخیص 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 بات 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 یک مورد جسم لیشمن دیده شده است و از چهار بیمار در دو مورد روش سرولوریائی ایمو نوفلورسانس در تشخیص کلا آزار نقش اصلی را داشته است.

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

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

REFERENCES :

- 1- Canvago, 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- ذوبن- ذ، ادريسیان- غ. ح. استفاده از روش فلورسانس آنتی بادی در تشخیص سالک - مجله بهداشت ایران، سال چهارم، صفحه‌های ۱۳۹- ۱۴۵.