تشخیص آزمایشگاهی
Tashkhis Azmayeshgahi
سال دهم
شماره ۵۵
فروردین و اردیبهشت ۱۳۸۷

نگرشی تازه در تشخیص کالا آزار

دکتر مجتبی تاران

دانشگاه رازی کرمانشاه

Abstract:

Kala-azar (visceral leishmaniasis) is a systemic protozoan disease that is transmitted by phlebotomine sandflies. Early and accurate diagnosis and treatment remain key components of Kala-azar control. As the clinical presentation of Kala-azar lacks specificity, confirmatory tests are required to decide which patients should be treated. Such tests should be highly sensitive95%«)) as Kala-azar is a fatal condition, but also highly specific because the current drugs used to treat Kala-azar are toxic. Ideally, a test should be able to make the distinction between acute disease and asymptomatic infection, because none of the drugs currently available is safe enough to treat asymptomatic infections. Moreover, such tests should be simple and affordable. In addition to improved diagnostic tests, accurate and simple tests are needed to identify treatment failures.

کالاآزار یا لیشمانیوز احشایی یک آلودگی انگلی خطرناکی است. این بیماری سیستمیک ناشی از انگل لیشمانیا است که در صورت عدم تشخیص و درمان به هنگام کمابیش در همه‌ی موارد باعث مرگ بیمار می‌شود(۱). در ایران تیپ مدیترانه‌ای این بیماری وجود دارد. این بیماری در بیشتر نقاط کشور به صورت اسپورادیک (تک گیر) وجود دارد و در استان‌های اردبیل، آذربایجان شرقی و فارس و بوشهر به شکل اندمیک دیده می‌شود(۲).

تشخیص بیماری کالاآزار به دلیل داشتن نشان‌های مشترکی با بیماری‌های مانند مالاریا، تیفوئید و سل دشواراست. روش‌های قطعی برای تشخیص کالاآزار دیدن آماستیگوت‌های انگل در گسترش‌های مغز استخوان یا طحال و مشاهده پروماستیگوت‌های انگل در محیط‌های کشتی مانند NNN می‌باشد. با وجود اینکه حساسیت گسترش طحال می‌تواند بیشتر از ۹۵٪ باشد اما خطر خونریزی عیب بزرگی برای این روش محسوب می‌شود. از طرف دیگر آسپیراسیون مغز استخوان دارای معایبی از قبیل درد فراوان، حساسیت پایین وسختی اجرا می‌باشد. کشت پروماستیگوت هم به صورت روتین استفاده نمی‌شود زیرا نیاز به وسایل گران قیمت و تجربه فراوان دارد (۳ و ۴). با این وجود گسترش طحال یک روش رایج برای

انوار دانش
کارشناسی – کارشناسی ارشد – دکترای تخصصی

تشـخیص این بیمـاری در بعضی از مناطـق اندمیک بیماری می‌باشد. با توجه به مشکلات موجود در روش‌های دید مستقیم انگل چند روش غیر اختصاصی مانند تسـت فرمول ژل، تست آلدئید و تسـت کوپرا آنتیموان استفاده شده است. از آن روی که این تسـت‌ها دارای اعتبار پایینی هستند پس بهتر است که این تسـت‌ها از ردیف تسـت‌های تشـخیصی بیماری حذف شوند.

مانند بیشـتر بیماری‌های دیگر تست‌های ویژه‌ای برای ردیابی آنتی‌بـادی تولید شـده در بیماری کالا آزار اسـتفاده می‌شـوند. روش‌هـای معمولـی ردیابـی آنتی‌بـادی شـامل انتشـار ژل، تسـت فیکساسـیون کمپلمان، تسـت هماگلوتیناسیون غیر مسـتقیم، تسـت ایمونوفلورسنت غیر مسـقیم و تست کانتر کارنت ایمونوالکتروفورز اسـت. علاوه بر مشکلات اجرائی در آزمایشگاه‌های تشیص طبی، اعتبار پایینی دارند.(۳و۵)

از میان روش‌های پیشنهاد شـده برای تشخیص کالاآزار تست آگلوتیناسـیون مسـتقیم (DAT) بر اسـاس روش Allain و Kagan بعد از چندین سـال که از ابداع آن می‌گذرد هنوز نیز به عنوان بهترین، اقتصادی‌ترین و سـاده‌ترین روش تشخیص این بیماری شناخته شده است(۶).

در ایران نیز DAT بـرای تشخیص و بررسی سروایپدمیولوژیک کالاآزار در انسـان و سگ بویژه در مناطق‌اندمیک بطور گسترده استفاده می‌شود وبررسی‌های قبلی انجام شده در ایران آن را از نظر سـهولت کار، اقتصـادی بـودن و ویژگـی برتر از تست‌های ELISA و IFA نشان داده است(۷و۸).

ELISA نیز یکی دیگر از روش‌های سرولوژیک است که امروزه کاربرد گسـترده‌ای در تشخیص طیف وسـیعی از بیماری‌ها از جمله لیشـمانیوز احشـایی دارد. الیزا روشی است حساس که امـروزه با تکنیک‌های گونگون انجام پذیر اسـت. در بررسـی انجام شـده در ایـران نیز ویژگـی S-ELISA و F-ELISA به ترتیب ۹۲٪ و ۹۳٪ و حساسـیت آنها ۱۰۰٪ و ۹۳٪ گزارش شده اسـت(۹). ایـن تسـت (ELISA) وقت‌گیر می‌باشـد و برای انجام آن باید چند مرحله انکوباسـیون و شستشو را پشت سر گذاشت، رعایت دقیق زمان‌های انکوباسیون و مراحل شستشو همچنین نحوه شسـتن پلیت‌ها از اهمیت ویـژه‌ای برخوردار اسـت و اگر به درسـتی انجام نگیرد باعث قرائـت نتایج غیر واقعی خواهد گردید.

PCR نیز علیرغم دقت بالا و اختصاص بودن، نیاز به تجهیزات پیشـرفته، تخصص و زمان زیاد دارد. این روش تشـخیصی، دقیق ولی دشوار است و برای شرایط فیلد با امکانات صحرایی مناسب نمی‌باشد.

جستجوی آنتی‌بادی بر علیه آنتی‌ژن rk39 (که امروزه به صورت نوترکیب در دسـترس می‌باشد) برای تشـخیص این بیماری از حساسیت و ویژگی قابل قبولی برخوردار می‌باشد (۱۰) .

تیترهای IgG ضد rk39 به میزان انگل در بدن مریض وابسـته اسـت و در بیمـاران صعب‌العـلاج تحت شـیمی درمانی این تیترها هیچگونه کاهشـی نشـان نمی‌دهند. اپی توپ rk39 در لیشـمانیا اینفانتوم پایدار است. سطح بالای آنتی‌بادی‌های ضد rk39 در بیماران مبتلا به لیشـمانیوز احشـایی و لیشـمانیوز پوستی بعد از کالاآزار (PKDL) استفاده از دیپ استیک rk39 را بـرای تشـخیص به عنوان یک روش ویژه و حسـاس تأیید می‌کند(۱۲).

آنتـی‌ژن K39sub زیـر واحد تشـکیل دهنده آنتـی‌ژن K39 می‌باشد که دارای ۳۹ اسـید آمینه می‌باشد، تهیه و فرآوری این آنتی‌ژن کوچک آسان بوده و در بررسی‌های گذشته حساسیت و ویژگی مناسـبی برای آن گزارش شده است(۲۱). در یک بررسی کـه Rosati و همکارانش در ایتالیا انجام دادند نشـان دادند که حساسـیت و ویژگی آنتـی‌ژن K39sub در تشـخیص بیماری لیشمانیوز احشایی به ترتیب ۹۵ و ۱۰۰ می‌باشد(۲۱).

rK39sub بدسـت آمـده از لیشـمانیا اینفانتوم سـویه ایرانی در تشـخیص مـوارد حـاد بیمـاری کالاآزار یعنـی عیارهـای ۱:۳۲۰۰ ≥ در انسـان و ۱:۳۲۰ ≥ در سـگ دارای حساسـیت زیـادی می‌باشـد. همچنان که بررسی‌های گذشته نیز همین امر را نشـان داده‌اند، در واقـع این آنتی‌ژن در تشـخیص موارد با نشان‌های بالینی موفقیت بیشتری دارد تا در موارد فاقد نشانگان بالینی (۲۱و۴۱).

اگرچه شمار بسیاری از تست‌های غیر تهاجمی برای تشخیص لیشمانیوز احشایی موجود هستند اما بیشتر اینها به دلیل گران بودن، نیاز به افراد با تجربه، وسـایل پیشـرفته و وابسـتگی به برق، به صورت رایج در مناطق اندمیک اسـتفاده نمی‌شـوند. روش‌هـای پارازیتولوژیک مانند آسپیراسـیون مغز اسـتخوان و طحـال با وجـود محدودیت‌هایشـان هنوز به عنوان تسـت مبنا استفاده می‌شـوند. در میان تست‌های مختلف تست دیپ اسـتیک rK39 دارای این توانایی می‌باشد که در شرایط فیلدی استفاده شود، این تست در بعضی از مناطق اندمیک به صورت رایج اسـتفاده می‌شـود. در آینده برای تشـخیص لیشمانیوز احشـایی از تست‌هایی اسـتفاده می‌شود که سـاده، ارزان و در

دسترس باشند.

منابع

1-Pearson, RK.(1990). Leishmania Species, Visceral Kala-azar, In:Mandell GL, priciplces and practice of infectous diseases,3rd ed, new york, Churchill Livingstone;20:68-71.

۲- حمزوی، ی (۱۳۷۸) . بررسی اپید میولوژی لیشمانیوز جلدی و احشایی و تعیین مخازن انها در شهرستان‌های دشتی و دشتستان از استان بوشهر طی سال‌های ۱۳۷۷الی ۱۳۷۹ . پایان‌نامه برای دریافت درجه دکتری انگل شناسی پزشکی از دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران.

3-Shyam, S.(2003).Diagnosis of Kala-azar: an importanat stride.JAPI;51:753-5.

4-Sundar, S. et al.(2002).Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis.Clin Diag Lab Immunol;9:951-8.

5-Sinha, R.(1994).Comparative evaluation of serological tests in indian Kala-azar.J Trop Med Hyg;97:333-40.

6- Allian, DS. et al(1975). A direct agglutination test for leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg; 24: 232-36.

7-mohebali, M. et al (2005).Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniosis in the Islamic Republic of Iran. Vet Parasitol;129: 243–251.

8-Mohebali, M. et al (2006).Application of Direct Agglutination Test(DAT) for the diagnosis and seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis in Iran. Iranian J Parasitol;1:15-25.

9- Khorshidian, S. et al (1994). Evaluation of ELISA intact promastigotes as antigen for the diagnosis visceral leishmaniasis. Iranian.J.Med. Sci,19 (172): 15-1.8

10- Richard, R. et al (2002). Rapid detection of Leishmania infantum In fection in Dogs. J Clin Microbiol; 40: 2352-6.

۱۱- شمسی، ش (۱۳۷۹). ارزشیابی کیت kcrK۳۹ Dipsti به منظور تشخیص سریع لیشمانیوز احشایی پایان نامه کارشناسی ارشد انگل شناسی از دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران.

12- Rosati, S. et al (2003). Prokaryotic Expression and Antigenic Characterization of Three Recombinant Leishmania Antigens for Serological Diagnosis of Canine Leishmaniasis. Clin Diag Lab Immunol;10 : 1153-115.6

13-Taran, M. et al (2007).Preparation of a K39sub Recombinant Antigen for the Detection of Leishmania infantum Antibodies in Human: a Comparative Study with an Immunochromatographic Test and Direct Agglutination .Iranian J Parasitol;2: 25-33

14-Taran, M.et al (2007).Diagnosis of canine visceral leishmaniasis by ELISA using k39sub recombinant antigen.Iranian J Publ Health; 39 : 1-6

انوار دانش
کارشناسی - کارشناسی ارشد - دکترای تخصصی